LES PROBLÈMES BIOLOGIQUES

Collection de Monographies
publiées sous le patronage du Comité technique des Sciences naturelles
des Presses Universitaires de France

LA CINÉTIQUE DU DÉVELOPPEMENT

Multiplication cellulaire et Croissance

PAR

E. FAURÉ-FREMIET

Docteur ès sciences
Sous-Directeur du Laboratoire d'Embryogénie comparée
du Collège de France

PRÉFACE DE M. L. F. HENNEGUY
Membre de l'Institut
Professeur au Collège de France

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

Digitized by the Internet Archive
in 2026 with funding from
University of Toronto

https://archive.org/details/lacintiquedudvel00faur

L.o.5
28/9/26

LA CINÉTIQUE DU DÉVELOPPEMENT

Biol
F.

LES PROBLÈMES BIOLOGIQUES
Collection de Monographies
publiées sous le patronage du Comité technique des Sciences naturelles
des Presses Universitaires de France

LA CINÉTIQUE DU DÉVELOPPEMENT

Multiplication cellulaire et Croissance

PAR

E. FAURÉ-FREMIET
Docteur ès sciences
Sous-Directeur du Laboratoire d'Embryogénie comparée
du Collège de France

PRÉFACE DE M. L. F. HENNEGUY
Membre de l'Institut
Professeur au Collège de France

2044447
a. 2. 27

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE
49, BOULEVARD SAINT-MICHEL, PARIS

1925

TORONTO LIBRARY

Nous adressons tous nos remerciements à la Maison Masson et à la direction du *Bulletin biologique* de la France et de la Belgique, qui nous ont gracieusement permis d'utiliser quelques figures précédemment publiées dans le *Bulletin biologique* et dans les *Archives d'Anatomie microscopique.*

E. F. F.

PRÉFACE

Les diverses branches de la science ont été pendant longtemps plus ou moins indépendantes les unes des autres. Parmi elles l'Embryogénie, c'est-à-dire l'étude du développement des êtres organisés, n'a été d'abord qu'une science d'observation n'ayant de connexion qu'avec l'Anatomie comparée. On se contentait de voir comment, aux dépens d'une cellule initiale, l'œuf fécondé, se constitue une série de cellules qui se disposent en feuillets blastodermiques, et de constater de quelle manière ceux-ci se transforment pour donner les ébauches des différents organes. Ayant remarqué que chacune des phases, par lesquelles passe un organisme pendant son développement, représente plus ou moins une forme de la série animale, les embryogénistes, sous l'influence des idées transformistes, pensaient que le but de l'Embryogénie était de déterminer la filiation des espèces. Durant une longue période, ils ne s'occupèrent que des relations existant entre l'ontogenèse et la phylogenèse. Il y a une quarantaine d'années, tout mémoire sur le développement d'une espèce animale comportait un arbre généalogique plus ou moins fantaisiste de cette espèce. On ne tarda pas cependant à s'apercevoir que ces spéculations théoriques ne conduisaient qu'à des hypothèses dont le bien fondé ne pouvait être vérifié par l'observation, les données fournies par les restes des espèces disparues ou transformées étant trop incomplètes ou faisant défaut.

Cependant quelques embryogénistes avaient reconnu que l'étude du développement comporte autre chose que celle des transformations morphologiques que présente l'embryon pendant son évolution. L'embryon, depuis l'œuf jusqu'à sa forme définitive, est un être vivant : il se nourrit, respire, s'accroît. Il y a donc une physiologie de l'embryon, comme il y a une physiologie de l'adulte, mais c'est une physiologie spéciale et qui varie suivant les espèces, les conditions dans lesquelles l'œuf se développe pouvant être très différentes. Pour l'étude de la physiologie de l'œuf et de l'embryon on a dû mettre en œuvre les méthodes employées pour déterminer les fonctions des organes adultes. Après avoir demandé à l'observation à peu près tout ce que celle-ci pouvait donner, l'Embryo-

génie est devenue expérimentale et elle a suivi dans cette évolution celle de la Physiologie générale. Celle-ci, par suite des progrès rapides et remarquables des sciences physico-chimiques, s'efforce actuellement d'expliquer les phénomènes vitaux par les lois qui régissent les phénomènes physiques et chimiques. Depuis une quinzaine d'années des travaux très importants ont été consacrés à l'étude de la constitution des substances colloïdes et du protoplasma, aux échanges de la cellule avec le milieu ambiant, à l'action des électrolytes dans les phénomènes osmotiques, à l'influence exercée sur la vitesse des processus de développement par l'action de forces physiques ou d'agents chimiques, etc... Les données déjà acquises dans cet ordre d'idée se trouvent dispersées dans un grand nombre de mémoires et de notes publiés dans les revues les plus diverses. Aucun travail d'ensemble n'avait encore été consacré à un exposé de la voie nouvelle dans laquelle est entrée l'Embryogénie. Le présent ouvrage vient heureusement combler cette lacune.

M. Fauré-Fremiet, sous-directeur du laboratoire d'Embryogénie comparée du Collège de France, qui m'a suppléé pendant l'année 1922-1923, *a choisi pour sujet de ses leçons les questions d'actualité qui préoccupent les embryogénistes ; ce sont ces leçons qu'il publie aujourd'hui. Mieux que tout autre il était désigné pour exposer ces questions. Son beau travail sur le cycle germinatif de l'*Ascaris megalocephala, *devenu rapidement classique, ses recherches nombreuses sur les Protozoaires et sur les mitochondries, sur la constitution de l'œuf de Grenouille et de* Sabellaria, *sur le développement du poumon, sur la cicatrisation des plaies, etc..., l'avaient préparé à étudier un sujet aussi difficile. Son ouvrage est un résumé exact et substantiel de tout ce qui a été fait jusqu'ici sur ce que l'on peut appeler la « cinétique du développement », qui comprend l'étude des conditions d'équilibre de la structure cellulaire, de la croissance de la cellule, des changements d'état du système cellulaire au cours de la division, des transformations chimiques et énergétiques pendant le développement embryonnaire dans l'œuf, des lois de la croissance des corps et des organes ainsi que celle des cellules libres et isolées.*

Ce n'est pas un simple travail de compilation et de mise au point ; il renferme le résultat des propres recherches de l'auteur et contient des vues personnelles et originales. Les biologistes apprécieront l'effort de M. Fauré-Fremiet et lui seront reconnaissants de leur avoir donné un instrument de travail devenu aujourd'hui indispensable à tous ceux qui entreprennent des recherches dans le domaine de la Cytologie, de l'Embryogénie et de la Biologie générale.

L. F. Henneguy,
Membre de l'Institut,
Professeur au Collège de France.

INTRODUCTION

Si nous examinons le fait infiniment banal que représente le développement d'un Poulet, par exemple, nous voyons tout d'abord qu'il existe à la surface du jaune de l'œuf une tache ou cicatricule qui, nous le savons, représente la partie essentiellement protoplasmique de l'énorme cellule ovulaire. Nous voyons ensuite que dans certaines conditions rigoureusement déterminées, cette cicatricule subit des transformations caractéristiques et devient le disque germinatif qui s'étend, se creuse d'une gouttière médullaire, s'entoure d'une aire vasculaire, se plisse, et constitue des ébauches d'organes dont les uns seront temporaires, tandis que les autres, en continuant à s'accroître d'une manière coordonnée, vont constituer les parties d'une construction vivante, d'un organisme tel que le jeune poussin au moment de l'éclosion.

Telle est, à larges traits, l'esquisse d'un exemple de développement embryonnaire.

Le terme « Ontogenèse », généralement adopté aujourd'hui, a été proposé par HAECKEL pour définir, sans ambiguité, la série des transformations qui se succèdent entre l'état d'œuf et celui de jeune organisme tel que notre poussin ; littéralement parlant, l'ontogenèse est la formation de l'être, la construction d'un individu vivant.

Mais nous savons que l'individu qui vient d'être constitué, le jeune poussin considéré comme le terme final du développement embryonnaire, n'est qu'un état temporaire ; ce jeune va s'accroître et sa structure va s'enrichir de caractères nouveaux ; le poussin va devenir Poulet et celui-ci va devenir Coq ; arrivé à l'état adulte, il présentera, dans leur plus complète expression, tous les signes de son espèce et de sa race, et un tel état nous semblerait stable et définitif si nous ne savions que les transformations se poursuivent encore et que lentement, mais sûrement, notre Coq s'achemine vers la vieillesse, la décrépitude et la mort.

Malgré quelques apparences, on peut dire qu'il n'existe pas d'état stable compatible avec la vie et que l'idée de développement, envelop-

pant les diverses notions de transformations, de variation ou d'évolution, est inséparable de l'idée d'organisme ou d'être vivant.

Examinons plus en détail le développement d'un être vivant quelconque à partir de l'œuf (1) ; nous le caractériserons par la réalisation successive, dans un ordre déterminé, de structures diverses dont nous pouvons dire qu'elles sont généralement de plus en plus compliquées. Nous définirons à l'aide de ces structures un certain nombre de stades, depuis les premières divisions de la cellule œuf, c'est-à-dire la segmentation sous ses différents aspects, jusqu'à la formation des organes à partir de leurs premières ébauches. Ces observations et les recherches qui s'y rapportent ont donc pour objet essentiel l'étude de la forme et de ses origines, l'étude de la « Morphogenèse ». Systématiquement étendue dans toutes les directions et dans tous les groupes zoologiques, cette étude a déjà groupé un vaste ensemble de résultats définitifs, et l'on peut dire aujourd'hui que tous les stades essentiels sont connus pour tous les principaux types de développement.

Une remarque est ici nécessaire. Nous connaissons actuellement dans leurs ultimes détails visibles la structure d'un œuf de Grenouille et celle d'un œuf d'Oursin ; nous connaissons de même les phénomènes de la segmentation propre à chacun d'eux et les processus organogéniques qui entraînent la constitution d'un Têtard, puis d'une Grenouille dans le premier cas, d'une larve *Pluteus*, puis d'un Oursin dans le second ; mais cette connaissance morphologique ne nous apprend pas, quant au fond, la raison nécessaire qui relie la structure de l'un de ces œufs à celle de l'être qui en dérive. Et si nous considérons deux œufs de structure très analogue, tels que celui d'une Étoile de mer et celui d'une Annélide polychète, nous ne comprenons nullement pourquoi, dans des conditions d'apparence identique, ils donneront naissance à des organismes si différents. Nous pouvons seulement en conclure que l'étude morphologique de l'ontogenèse, l'étude des formes et de leur ordre de succession chez l'individu en voie de développement, représente un point de vue purement extérieur ; c'est une première prise de contact à laquelle on ne doit pas demander plus de renseignements qu'elle n'en peut donner, et, disons-le tout de suite, ceux qu'elle apporte seront longtemps encore de trop grande valeur pour justifier cette sorte de dédain avec lequel certains esprits, leurrés par quelques déductions hâtives de la « Biologie générale », considèrent parfois les sciences morphologiques.

A côté de l'étude de la forme, l'étude du fonctionnement s'impose

(1) Nous nous limiterons ici à l'étude de ce seul mode.

en ce qui concerne les phénomènes du développement. En fait, la physiologie de l'embryon existe et, voici trente-cinq ans, PREYER publiait déjà un ouvrage d'ensemble sur cette physiologie spéciale dont nous devons examiner quelques exemples.

Certaines fonctions, telles que les fonctions nerveuses, apparaissent progressivement par étapes au cours de l'ontogenèse ; les remarquables recherches de WINTREBERT permettent de distinguer trois périodes principales dans la vie de quelques embryons ; une première période, *aneurale*, bien caractérisée par la sensibilité ou l'irritabilité ectodermique que l'on observe tout d'abord chez les larves d'Amphibiens, par l'automatisme du cœur embryonnaire, par l'automatisme des contractions rythmées des muscles du squelette chez les embryons de Sélaciens. Puis une seconde période, *neuro-aneurale*, pendant laquelle un même appareil fonctionne à la fois par le jeu de son automatisme primitif et sous l'action du système nerveux central en voie de développement. Enfin une dernière période, *nerveuse*, caractérisée par la formation de l'appareil nerveux définitif ou d'éléments nerveux transitoires qui imposent aux différents organes moteurs une coordination.

L'évolution de la fonction est nettement parallèle dans ce cas à l'évolution morphogénique des organes ; d'accord avec PATON, WINTREBERT pense que la « fibrillation » du nerf constituée sur tout son parcours est la marque histologique nécessaire de son pouvoir fonctionnel. De même l'apparition d'un appareil nerveux transitoire, tel que celui constitué par les cellules géantes dorsales de ROHON-BEARD, se manifeste nettement chez les embryons de Sélaciens par quelques-unes des particularités physiologiques de la troisième période.

Chez le jeune fœtus de Mammifère, CLAUDE BERNARD a montré que les épithéliums renferment du glycogène, alors que le foie n'en contient pas ; c'est à une époque de la vie fœtale variable suivant l'espèce que la fonction glycogénique de cet organe apparaît brusquement, à une époque où la structure de la cellule hépatique est déjà fixée ; les recherches récentes de MAX ARON ont précisé ces données. Quelle est la raison de ce développement subit de la glycogenèse ? Il est difficile, pour de multiples raisons, d'en chercher la cause dans quelques détails de la physiologie maternelle ; et l'étude de la morphogenèse ne révèle d'autre part à ce stade, dans l'évolution de la cellule hépatique, aucun fait particulier, aucune acquisition nouvelle expliquant l'apparition d'une fonction. Il en est tout autrement si on examine un autre organe tel que le pancréas. LAGUESSE a montré comment, chez le Mouton en particulier, la glande endocrine de cet organe se constitue progressivement par la formation

aux dépens des tubes primitfs de l'organe de bourgeons latéraux pleins ; il apparaît successivement des îlots primitifs et des îlots secondaires ; Max Aron montre que ces derniers ne constituent pas encore la glande endocrine définitive : ce sont les îlots de Laguesse d'origine précoce et dont la fonction est encore inconnue ; les îlots de Langerhans proprement dits apparaissent plus tardivement, et leur période de développement maximum coïncide exactement avec le brusque développement de la fonction glycogénique. Il semble logique d'admettre avec cet auteur que l'activité glycogénique hépatique est subordonnée à l'activité endocrine du pancréas, en rapprochant les faits observés des données relatives à ces mêmes organes adultes. Si nous continuons l'étude du pancréas, les recherches de Porcher et Tapernoux nous montrent, chez le Veau, cette fois, l'existence de la trypsine, de l'amylase et de la lipase, dès la seconde moitié de la vie fœtale, et Giroux, par l'examen histologique, montre que la cellule pancréatique exocrine subit de très bonne heure chez le Mouton une mise en charge lente ; l'accumulation des grains de Claude Bernard semble limitée par une activité sécrétoire faible ; et plus tard, dans la seconde moitié de la vie fœtale, cette activité s'accentue et se traduit par le dépôt dans les lumières glandulaires d'un produit de sécrétion coagulé par les réactifs. Giroux invoque ici l'influence d'un stimulus humoral dont l'origine peut être soit maternelle, soit proprement fœtale, et il serait sans doute intéressant de poursuivre ces recherches en examinant l'intestin. L'étude de l'apparition de diverses fonctions a déjà donné par ailleurs d'intéressants résultats en ce qui concerne la surrénale et la formation de l'adrénaline par exemple (Weymann 1922, etc.) (1).

De telles actions humorales sont d'ailleurs évidentes si l'on examine les nombreuses expériences sur la métamorphose des larves de Batraciens. On sait que la sécrétion thyroïdienne joue un rôle important dans ces phénomènes ; son action accélérante sur la métamorphose a été démontrée par des procédés expérimentaux divers : ablation de la thyroïde, ou introduction dans l'alimentation des Têtards de produits thyroïdiens, ou de composés organiques iodés ; Dragoiu et Champy ont montré que l'accélération des processus de résorption d'organes larvaires observée dans ce cas peut être mise en parallèle avec l'augmentation du métabolisme azoté que l'on constate chez les Mammifères soumis à un régime thyroïdien. Nous n'insisterons pas sur de tels exemples, car on sait aujourd'hui toute l'importance que présentent les sécrétions internes de

(1) La recherche des ferments chez l'embryon a donné lieu à nombre de travaux ; citons Langendorff (1897), Herlitzka (1907), etc.

divers organes, hypophyse, glande intersticielle, etc., sur le développement et la croissance. Au point de vue de la physiologie spéciale de l'embryon et de la larve, il nous suffit de constater l'étroite interdépendance que les mécanismes humoraux déterminent entre des organes en voie de développement.

Mais si de tels mécanismes nous expliquent pourquoi la fonction glycogénique se développe brusquement chez le fœtus de Mouton vers la douzième semaine, ils ne nous expliquent ni comment la cellule hépatique était devenue apte à remplir cette fonction, ni pourquoi les îlots de LANGERHANS se développent à cette époque dans le pancréas, tandis que la glande exocrine de cet organe évolue lentement et se trouve prête à fonctionner activement cinq semaines plus tard. Si les sécrétions thyroïdiennes nous expliquent les régressions tissulaires de la métamorphose chez les Batraciens, elles ne nous expliquent ni pourquoi les muscles de la queue du Têtard sont destinés à régresser, ni pourquoi la glande thyroïde se développe ; et si l'on invoque l'action d'autres sécrétions internes, on ne fait que reculer le problème. Il faut donc admettre que chaque organe ou chaque tissu embryonnaire possède une capacité propre d'évolution, et que les interactions d'organes ou de tissus réalisées par le mécanisme humoral sont avant tout des phénomènes de régulation et de compensation.

Est-il possible d'analyser les phénomènes définis par cette vague formule de capacité évolutive d'un organe, et de chercher la trace d'un mécanisme plus profond, d'un tissu, voire d'une cellule ?

« L'organisme animal, écrivait CLAUDE BERNARD, n'est en réalité qu'une machine vivante qui fonctionne suivant les lois de la mécanique et de la physico-chimie ordinaires, et à l'aide de procédés particuliers qui sont spéciaux aux instruments vitaux constitués par la matière organisée. » L'évolution de la physiologie a montré la fécondité de cette conception qui doit être étendue à l'organisme en voie de développement ou de réalisation.

Nous avons examiné ce développement au point de vue extérieur de la forme ou de la structure, puis au point de vue plus intime du fonctionnement physiologique ; on peut encore le regarder sous l'angle des mécanismes physico-chimiques généraux qui sont en jeu dans les phénomènes de l'ontogenèse, si toutefois ceux-ci nous sont accessibles, et à condition de partir du stade initial, c'est-à-dire de l'œuf.

Une première méthode de tâtonnement expérimental a été appliquée. Prenant un œuf, un embryon, une larve, suivant le cours normal de l'ontogenèse, on a fait varier les facteurs directement accessibles, c'est-à-dire les conditions physiques et chimiques externes caractéristiques du milieu normal ; dans ce cas, les phénomènes

du développement ont été modifiés. On a donc la possibilité d'agir sur les mécanismes intimes de l'ontogenèse et cette méthode a donné des renseignements du plus haut intérêt ; ses résultats coordonnés appartiennent à ce que Wilhelm Roux a nommé l'Entwicklung-Mechanick, à ce que Brachet nomme plus explicitement l'Embryologie causale.

Une telle méthode nous indique essentiellement la mesure dans laquelle les processus du développement dépendent des conditions environnantes, et les limites possibles de leurs variations ; quelle que soit sa fécondité elle demeure unilatérale ; elle nous donne un moyen d'action extérieur sur un mécanisme supposé et la réponse à cette action se traduit par une variation de l'aspect extérieur, de la forme de l'être en voie de développement.

Une seconde méthode, plus directement analytique, est donc nécessaire. Si l'Embryologie causale nous montre que les facteurs physico-chimiques externes donnent prise sur les mécanismes du développement, elle nous montre encore, par un remarquable ensemble de recherches expérimentales, que l'on peut atteindre directement ces derniers en lésant ou en supprimant telle partie de l'œuf à tel stade de son évolution ; et par là même se trouve établie l'importance des « facteurs internes du développement ». Mais nous devons considérer provisoirement tout au moins ces « facteurs internes » comme identiques aux mécanismes physico-chimiques que nous supposons en jeu dans le cours de l'ontogenèse, et ceux-ci demeurent indéterminés. Il nous reste donc à poursuivre notre analyse suivant une troisième méthode en abordant les caractères de ces mécanismes eux-mêmes, ce qui revient à tenter l'étude physico-chimique de l'œuf et de l'embryon.

Il est actuellement possible de coordonner les premiers résultats donnés par ces méthodes, mais notre point de vue primitif devra subir une modification. La notion d'individu qui domine le problème général de l'ontogenèse passe ici au second plan ; l'organisme ne peut pas être séparé du milieu ambiant avec lequel il échange de la matière et de l'énergie ; l'ensemble doit être considéré comme un système dont l'état initial est l'œuf au moment de la fécondation, et dont nous choisissons l'état final selon l'importance que nous croyons pouvoir attacher à tel ou tel stade caractéristique du développement. Ce qui nous intéresse maintenant, ce sont les transformations que subit ce système entre les deux états initial et final, ou entre tous autres états intermédiaires caractérisables. Ces transformations ne pourront être étudiées que dans la direction physico-chimique, et, si cette préoccupation est légitime, nous pourrons synthétiser les résultats obtenus dans un bilan global qui se trouvera conforme aux lois de la

thermodynamique, même si la complexité des phénomènes nous empêche de suivre le détail des transformations intermédiaires.

A ce point de vue nouveau, tous les aspects possibles du développement ne présentent plus le même intérêt, et certaines caractéristiques s'imposeront plus immédiatement que d'autres en nous indiquant un moyen d'aborder plus directement les problèmes de l'ontogenèse.

La plus simple observation montre que le développement d'un être à partir de l'œuf comporte deux séries de phénomènes distincts. Considérons le cas d'un œuf à segmentation totale au premier stade du développement, les seuls échanges avec l'extérieur étant des échanges gazeux ; nous constatons que la masse de l'œuf diminue avec l'émission de l'acide carbonique ; il n'y a donc pas d'accroissement mais la segmentation fait succéder à la structure simple et monocellulaire de l'état initial une structure complexe due aux positions réciproques des nombreuses cellules de segmentation, disposition qui modèle rapidement les ébauches des parties du corps et des organes ; l'œuf en voie de transformation est donc le siège de processus d'*organisation* auxquels ne correspond aucun phénomène d'*accroissement*. A un stade ultérieur, au contraire, le jeune organisme effectue avec le milieu de multiples échanges de matières, grâce auxquels il construit lui-même ses propres constituants chimiques ; la masse augmente, il y a croissance proprement dite.

A la vérité, tandis que l'on peut observer des processus d'organisation non accompagnés de processus d'accroissement, il semble difficile d'imaginer un phénomène de croissance sans quelques processus correspondants d'organisation de la substance formée ; un tel cas ne semble pas exister. Il n'en demeure pas moins qu'*organisation* et *accroissement* sont deux phénomènes distincts (bien que le plus souvent associés pendant le développement d'un organisme) et que leur étude peut être conduite séparément. Ceci est un premier point.

Un second point, d'observation banale, lui aussi, est que la croissance d'un organisme est presque toujours limitée ; mesurée au cours du développement en fonction du temps, la vitesse de croissance varie continuellement ; faible d'abord aux premiers stades, elle s'accroît peu à peu, passe par un maximum, puis décroît et tend vers zéro en approchant de l'état adulte ; la courbe représentative de ces variations est une courbe en S qui schématise le fait que le développement d'un être n'est pas indéfini. Mais cette courbe globale n'est valable qu'en première approximation. Si l'on examine de plus près les phénomènes de croissance, on constate que la courbe trouvée résulte de la superposition de plusieurs courbes successives analogues ; chez

les Mammifères, on note un premier « cycle de croissance » pendant la vie intra-utérine, et un ou deux autres cycles après la naissance ; si maintenant au lieu d'examiner la croissance de l'individu tout entier on mesure celle d'un organe ou même d'un tissu, on peut mettre en évidence d'autres cycles moins étendus. Le cas de certains êtres tels que les Insectes est plus typique encore : la vie larvaire est une série régulière de cycles de croissance.

Si, au lieu d'étudier les variations quantitatives de la masse organisée d'un animal en voie de développement, on analyse la composition de ses organes à différents stades, on voit que celle-ci n'est jamais constante, contrairement à ce que l'on observe à l'état adulte. De plus, la variation de composition n'a pas une valeur constante, et l'on retrouve encore ici des courbes en S successives. On peut donc conclure que le développement représente une *possibilité limitée* et un processus *discontinu*.

Une troisième constatation est que le cours du développement ne peut pas se remonter ; un être ne repasse jamais par les stades antérieurs à celui qu'il vient d'atteindre. Ce fait, si évident en ce qui concerne un organisme supérieur (1), paraît cependant moins certain si l'on étudie les tissus qui le constituent ; l'expression « retour à l'état embryonnaire » est d'usage courant en anatomie pathologique, et l'étude de certains tissus et des phénomènes de dédifférenciations étudiés par Champy lui apportent même un sens plus précis. C'est donc en maintenant quelques réserves que la conclusion suivante peut être énoncée : le développement est un processus *irréversible*.

En ce qui concerne plus spécialement l'organisation, on sait que l'œuf présente une structure relativement simple ; à l'état initial du développement, l'hétérogénéité du système est celle que peut déceler l'étude morphologique et chimique de l'œuf ; cette hétérogénéité augmente du seul fait des premières divisions de l'œuf par la formation des figures de mitoses, d'abord, et par la formation ultérieure des nombreuses cellules de segmentation. On peut donc admettre que l'hétérogénéité du système augmente continuellement au cours des transformations qui s'effectuent entre l'état initial et l'état final.

En résumé, ce que nous appelons le développement d'un système organisé (à partir de l'œuf) est une possibilité limitée qui s'effectue par le jeu successif ou simultané de deux processus essentiels, la croissance et l'organisation, ce dernier processus pouvant être com-

(1) Dawydoff (1924) admet cependant, d'après ses propres recherches et celles de E. Schulz (1904 et 1906) sur les effets de l'inanition chez quelques Némertiens par exemple, qu'il peut exister une certaine *réversibilité* des processus du développement ; l'interprétation de cette *réversibilité* mérite cependant une discussion approfondie.

pris comme une augmentation de l'hétérogénéité primitive. D'autre part les changements d'états du système sont discontinus et sous certaines réserves paraissent irréversibles. Sans préciser davantage la nature de ces variations successives de l'état du système organisé, nous savons qu'elles absorbent de l'énergie; aux premiers stades du développement, pendant la segmentation et pendant l'organogenèse, bien avant que l'embryon ne manifeste une activité propre, le système est le siège d'oxydations importantes ; il brûle les réserves qu'il peut renfermer sous forme de vitellus ovulaire, ou les substances qui lui sont apportées par le milieu ; il dégage de l'acide carbonique et de la chaleur, et l'on peut établir son bilan énergétique global.

Il est difficile d'aborder les nombreux problèmes qui sont en rapport avec ces différents caractères du développement sans considérer l'étude de la cellule vivante. Il importe en effet de savoir si quelques-unes des propriétés caractéristiques du système en voie de transformation sont liées à sa structure ou bien appartiennent déjà en propre à ses éléments constitutifs, à ses cellules.

Nous notons, par exemple, que le développement est une possibilité limitée, et l'étude quantitative de la croissance d'un organe ou d'un individu peut s'exprimer par une courbe en S dont on a calculé l'équation ; cette équation diffère pour deux êtres appartenant à deux espèces différentes, ou pour deux organes différents d'un même embryon par la valeur de ces coefficients, mais sa forme reste la même. Cette forme n'est bien entendu qu'un aspect qui peut représenter des mécanismes très divers. En fait, on a formulé diverses hypothèses de tendances physico-chimiques qui cadrent toutes également avec les représentations mathématiques de la croissance. Mais nous avons vu que la courbe générale exprimant un « cycle de croissance » résulte de la superposition des courbes propres à chaque organe, à chaque tissu ; nulle raison de s'arrêter ici, car cette dernière courbe exprime la somme algébrique des accroissements propres de chaque élément cellulaire du tissu ou de l'organe considéré.

De même, la composition chimique d'un tissu, dont Mayer et Schaeffer ont montré la constance à l'état adulte, et dont nous avons signalé les variations discontinues au cours du développement, ne s'exprime que par des valeurs statistiques moyennes. Les délicates recherches de Herlant ont démontré l'existence de variations cycliques dans la composition d'une cellule en voie de division, telle qu'un œuf d'Oursin, et nous n'avons pas de raison d'admettre que de telles variations ou d'autres analogues ne se reproduisent point à chaque division de chaque cellule au cours de la croissance.

Si le développement est une possibilité limitée, si l'accroissement tend vers zéro après avoir passé par un maximum, la raison en est-elle

dans la forme des mécanismes très complexes de l'organisme pluricellulaire, ou se retrouve-t-elle plus profondément dans les phénomènes essentiels de la physiologie cellulaire ? On ne peut se leurrer sur l'étendue et la complexité d'un problème en apparence aussi simple ; cependant, les résultats obtenus concurremment avec les Protozoaires et les êtres supérieurs, au cours de recherches ayant pour objet la connaissance des conditions d'équilibre physico-chimiques du système que représente une cellule ou du système d'ordre plus complexe constitué par un ensemble de cellules, montrent que ce problème est accessible à nos moyens de travail actuels. Nous devons seulement tenir compte d'un phénomène essentiel que nous avons négligé jusqu'ici ; si les possibilités limitées du développement caractérisent le cycle de croissance d'un être, nous savons que ce cycle est intercalé entre deux séries, en apparence illimitées, de cycles semblables, car l'espèce est une continuité dans le temps. Chaque cycle individuel peut être le point de départ d'un cycle nouveau ; il peut donc réapparaître, à quelque moment d'une série de transformations, un état comparable à l'état initial.

Chez les organismes multicellulaires, quelques cellules seulement réalisent ce retour à l'état initial par un processus d'ailleurs irréversible, et permettent la réalisation d'un cycle nouveau ; ce sont les cellules reproductrices dont la lignée ininterrompue est souvent désignée sous le nom de *Germen*, par opposition avec les autres lignées cellulaires partageant l'évolution limitée de l'individu et constituant le *Soma*. Remarquons cependant que les tissus somatiques eux-mêmes sont capables dans certains cas normaux ou pathologiques de devenir l'origine d'un cycle nouveau ; tels sont les cas de reproduction asexuelle par bourgeonnement si répandus dans le règne animal, et les cas anormaux de croissance hyperplasiques donnant naissance à des tumeurs et aux cancers. Quoi qu'il en soit, ce retour d'une partie des cellules d'un organisme à un état analogue ou identique à un état initial de son cycle de croissance, peut être considéré en quelque sorte comme la fermeture de ce cycle, si bien que l'étude de la reproduction ne peut être séparée de celle du développement.

De quelque côté que l'on envisage l'étude des phénomènes intimes du développement, le problème se ramène donc toujours à définir les conditions physico-chimiques correspondant aux transformations d'un système organisé dont l'évolution limitée représente la vie d'un *individu*.

Cette orientation a l'avantage d'engager les recherches de l'ontogenèse sur un terrain solide où les problèmes peuvent se poser avec précision, et se résoudre par des mesures. Est-ce à dire que tous les aspects de l'ontogenèse puissent être examinés sous cet angle et

ramenés à ce point de vue ? Nous allons voir qu'une réponse affirmative serait au moins prématurée.

Nous avons considéré la morphogenèse au cours de ce rapide exposé, comme l'aspect extérieur de l'ontogenèse, l'étude des variations de la forme étant la première prise en contact entre l'observateur et les phénomènes du développement. Mais ce que nous entendons par « forme » représente aussi bien l'une des conditions physiques du fonctionnement, car elle exprime en général l'hétérogénéité du système organisé.

Une cellule de forme simple, telle qu'un œuf d'Annélide ou d'Échinoderme, est une masse protoplasmique dont l'ordre de grandeur est 10^{-7} gr. ; en faisant abstraction de la membrane vitelline perméable aux substances contenues dans l'eau de mer, et généralement séparée de l'œuf par un espace, nous constatons que la cellule proprement dite est une masse sphérique, et qu'elle présente en conséquence la forme la plus simple possible ; cette forme s'est généralement réalisée après la ponte, au contact de l'eau de mer, car les œufs comprimés les uns contre les autres dans la cavité maternelle étaient auparavant polyédriques. On en déduit logiquement que le protoplasma ovulaire est une substance non miscible à l'eau de mer, de consistance fluide ou visqueuse, puisque déformable, et de densité voisine de celle de son milieu naturel. L'œuf se comporte donc comme une goutte de n'importe quel autre liquide répondant à ces conditions et immergé dans l'eau de mer ; la forme sphérique est une forme d'équilibre.

La forme interne de cette cellule, c'est-à-dire de sa structure, est complexe ; l'étude histo-chimique y montre plusieurs sortes d'éléments de nature différente : cytoplasma proprement dit, mitochondries, vésicule germinative, globules graisseux, globules vitellins ; ces éléments diffèrent par leur composition chimique propre, par leur état physique, par leur solubilité dans l'eau de mer, et leurs miscibilités réciproques ; le protoplasma nous apparaît alors comme un système hétérogène constitué par plusieurs phases coexistantes ; l'une d'entre elles est une phase aqueuse continue, les autres sont des phases dispersées constituées soit par des granules colloïdaux de nature albuminoïde, soit par des granules visibles de substances grasses et protéiques variées. La distribution de tous ces granules est parfaitement homogène et toutes les directions possibles peuvent être considérées comme équivalentes dans l'intérieur de la masse ovulaire, sauf au voisinage immédiat de la surface externe ou de la surface nucléaire (la vésicule germinative pouvant être considérée également comme une phase distincte) car la tension superficielle, pour ne citer qu'un seul phénomène, intervient alors. Parfois une polarité s'établit progressivement dans l'œuf, certains

granules s'accumulent à un pôle, d'autres s'amassent à l'opposé ; ce fait résulte des différences de densité qui peuvent exister entre les constituants des phases dispersées, lesquels se sédimentent dans la goutte de substance protoplasmique visqueuse.

L'introduction de n'importe quel composé chimique capable de modifier la tension superficielle du protoplasma au contact de l'eau de mer, d'agir sur l'agrégation des particules colloïdales ou sur leurs liaisons avec l'eau, de faire varier la viscosité de la phase continue, de se dissoudre inégalement entre les diverses phases du système, rompt l'équilibre de celui-ci et transforme à la fois la forme et la structure de la cellule. Sans pousser plus loin l'analyse, on voit que la forme extérieure de la cellule considérée, comme sa structure protoplasmique la plus intime, dépendent étroitement des conditions physico-chimiques et représentent un état d'équilibre.

Un très grand nombre de travaux et quelques recherches récentes et plus précises, celles effectuées par Léo Loeb sur des Amibocytes cultivés *in vitro* par exemple, montrent qu'il en est bien ainsi dans tous les cas où la forme cellulaire est simple.

Vienne la division d'une telle cellule simple (nous ne considérerons pas ici les mitoses spéciales de la maturation ovulaire), un élément nouveau apparaît dans le cytoplasma ; c'est le centrosome qui se divise et détermine dans la masse protoplasmique un double champ de force. La distribution des éléments constituant les phases dispersées n'est plus homogène ; les colloïdes subissent une sorte de solidification et s'irradient suivant les lignes du double champ centrosomial, en constituant le fuseau central et les atmosphères ; les deux cellules-filles s'individualisent autour de chacun de ces territoires et se séparent ; la division est effectuée et la structure interne redevient isotrope.

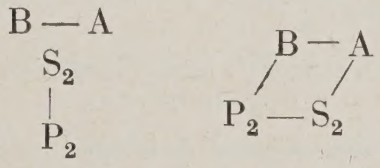
La nature du champ de force développé au niveau de l'appareil astérien est indéterminée, mais on a déjà réussi dans certaines conditions expérimentales connues à produire des figures astériennes dans une masse protoplasmique ; nul doute que nous ne soyons ici, comme en ce qui concerne la forme cellulaire au repos, dans le même domaine de conditions physico-chimiques. Tout au plus conviendrait-il d'insister sur un point théoriquement obscur : l'apparition, dans une masse hétérogène mais isotrope, d'un élément ou d'un espace étroitement localisé et jouissant de propriétés particulières.

Reprenons maintenant le cas d'un œuf simple, dont toute la structure au repos, après la fécondation comme avant, peut être considérée comme déterminée entièrement par des conditions d'équilibre physico-chimique, et examinons les phénomènes du développement morphogénique. Il n'est plus possible comme tout à l'heure de supposer les

conditions d'un équilibre statique considéré dans un temps nul. L'œuf évolue, c'est-à-dire fonctionne, il respire, il absorbe de l'oxygène ; ses réserves hydrocarbonées, par exemple, s'oxydent, il rejette de l'acide carbonique, et divers produits d'excrétions. Sa composition globale ne demeure donc pas constante, et nous trouverons dans ce fait, du moins, une cause interne de variation de l'équilibre physico-chimique de ses constituants non transformés.

Un cas typique sera donné par l'œuf d'*Ascaris megalocephala*. Boveri a montré que la sédimentation par ordre de densité des inclusions vitellines, d'ailleurs peu nombreuses, détermine une sorte de polarité de l'œuf. A moins que par un artifice expérimental on ne modifie cette polarité pendant la première division, l'axe de celle-ci passe par les deux pôles ; les deux premières cellules-filles, les deux blastomères du stade II sont donc différents l'un de l'autre, l'un contenant plus de globules graisseux légers que l'autre qui serait par contre plus riche en granulations denses. En fait, l'évolution de ces deux blastomères est différente, tandis que si par un artifice (centrifugation par exemple) on amène l'axe de la figure de division perpendiculairement à l'axe polaire, les deux blastomères sont équivalents et leurs propriétés évolutives seront identiques (on obtiendra dans ce cas un monstre double).

Revenons au développement normal de l'œuf d'*Ascaris* (fig. 1) et nommons, avec Boveri, S, le blastomère correspondant au pôle animal, le moins riche en vitellus, et P, le blastomère correspondant au pôle végétatif ; l'axe de la division de S est perpendiculaire à celui de la première mitose, tandis que l'axe de division de P est parallèle à celui-ci ; il en résulte une figure en T. De plus un phénomène spécial, la « diminution chromatique », s'est produit pendant la division de S, et les deux nouveaux blastomères A et B possèdent des noyaux à chromosomes nombreux et minuscules, tandis que les deux blastomères S_2 et P_2, issus de P, possèdent les grands chromosomes peu nombreux (2 ou 4 suivant la race d'*Ascaris*) que l'on voyait dans l'œuf. La figure en T se déforme et devient la figure rhomboédrique suivant le schéma suivant :



A partir de ce moment, la vitesse de division n'est plus la même pour les différents blastomères ; A et B donnent naissance à l'ectoderme primaire par une multiplication rapide ; pendant ce temps le blastomère S_2 se divise avec diminution chromatique et donne E, origine de l'endoderme, et MSt qui formera le mésoderme et le

stomodæum. Le blastomère P_2 se divise également et l'étude de la segmentation montre une lignée de cellules P_3, P_4, P_5, dont chaque

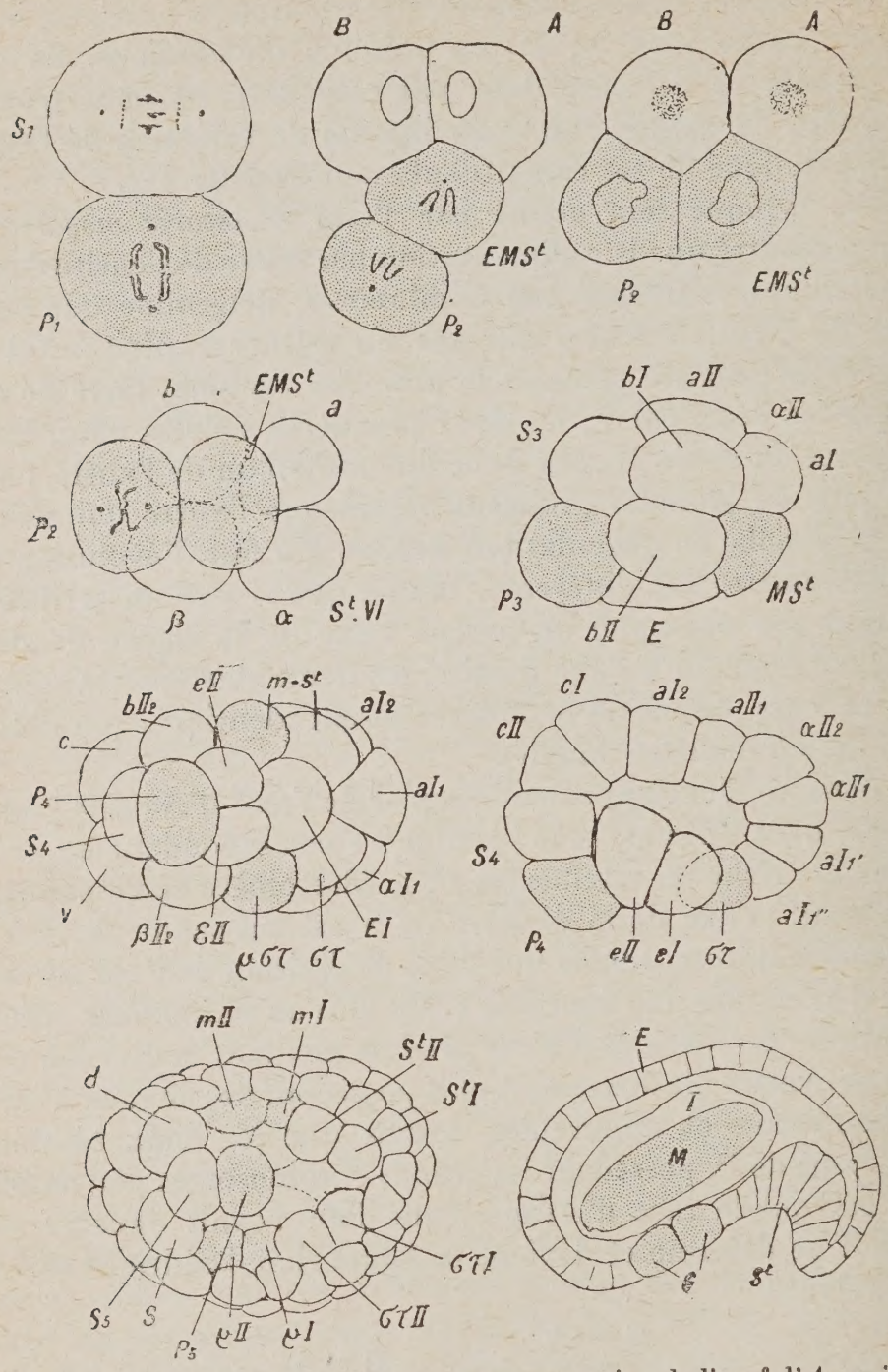


FIG. 1. — Principaux stades de la segmentation de l'œuf d'*Ascaris*, d'après BOVERI.

1. Stade II. — 2. Stade IV et recourbement de la figure en T. — 3. Figure rhomboédrique. — 4, 5, 6, 7 et 8. Stades successifs de la segmentation montrant les diverses cellules P_1-P_5 de la liquée germinative. — 9. Stade plus avancé montrant les deux initiales germinatives G.

cellule-sœur, S_3, S_4, S_5, donne, après avoir subi la diminution chromatique, une lignée de cellules somatiques occupant une situation

exactement déterminée dans la jeune larve, et correspondant respectivement à l'ectoderme secondaire, au proctodæum et à l'ectoderme tertiaire. Les cellules P ou germinales conservent les grands chromosomes, ainsi que les deux cellules issues de P_5, G1 et G2, qui sont les cellules génitales primordiales. Il apparaît donc qu'une simple différence d'ordre quantitatif dans la répartition des granulations graisseuses vitellines entre les deux premiers blastomères suffit à déterminer leurs propriétés évolutives. C'est l' « hypothèse de la relativité » de Boveri (fig. 2) ; mais il n'existe pour chaque blastomère que deux possibilités évolutives, et, quelle que soit la quantité *absolue* des granulations vitellines dans les deux premières cellules de segmentation, celles-ci ne pourront pas avoir d'autre caractère que ceux

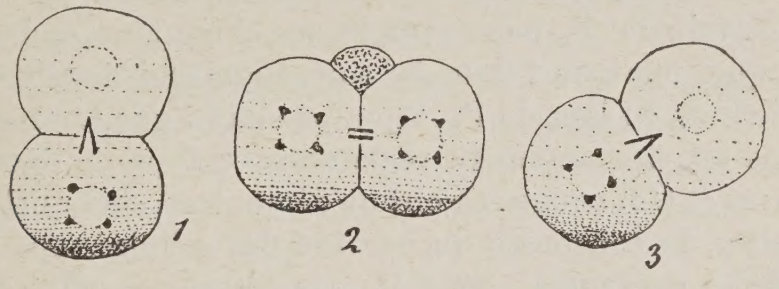


Fig. 2. — Schéma expliquant, d'après Boveri, l'hypothèse de la « relativité ».

Cette hypothèse suppose l'inégale répartition, dans le cytoplasma de l'œuf, d'une substance indéterminée. Celle-ci, conformément à ce que montre d'autre part la structure hétéropolaire de l'œuf, est supposée plus abondante au pôle végétatif qu'au pôle animal, en sorte que les deux premiers blastomères diffèrent l'un de l'autre non point par la présence ou l'absence de la substance X, mais par la quantité relative qu'ils en contiennent, l'un des deux étant par rapport à l'autre (et non point en grandeur absolue) affecté de l'un des signes plus ou moins. Ceci est exprimé sur les figures par un pointillé plus ou moins serré, et par les signes $<$ et $>$. On a supposé que le caractère B A ou somatique (blastomère animal) est lié au caractère moins, et le caractère P ou germinatif (blastomère végétatif) au caractère plus.

Schéma 1. — Segmentation normale ; le blastomère A B (noyau blanc) contient moins de substance X que le blastomère P (noyau avec quatre masses noires).

Schéma 2. — Œuf centrifugé, le fuseau de division perpendiculaire à la direction de la force. Les deux blastomères contiennent la même quantité de substance X ; ils sont égaux et possèdent l'un et l'autre le caractère P.

Schéma 3. — Œuf centrifugé, le fuseau de division oblique par rapport à la direction de la force. Les deux blastomères sont inégaux, le blastomère moins a le caractère A B ; le blastomère plus a le caractère P.

qui caractérisent soit P, soit S, suivant qu'elles en contiendront *plus* ou *moins* l'une que l'autre. Enfin, cette orientation évolutive des deux premiers blastomères étant réglée, le développement morphologique se poursuit selon un plan constant et à ce point précis que l'on peut repérer chaque cellule de segmentation jusqu'au moment où le nombre de celles-ci dépasse la centaine et où les ébauches des

organes sont définitivement constituées. La disposition de ces ébauches et la morphologie de l'embryon se réalisent donc par le fait que chaque cellule de segmentation possède une situation rigoureusement déterminée dans l'ensemble. Mais l'embryon est loin de posséder une forme simple ; la constitution en trois temps du recouvrement ectodermique, celle de l'invagination stomodæale du bourgeon intestinal, qui plus tard se soudera au stomodæum, des masses mésodermiques refoulées dans la cavité de segmentation, ne peuvent être réalisées que par l'orientation précise des axes de division cellulaire les uns par rapport aux autres, et par des rapports non moins précis entre les temps qui séparent ces différentes divisions. D'ailleurs, les phénomènes d'autorégulation ne semblent guère exister dans ce cas, et si l'on détruit à l'aide des rayons X telle cellule sensible de la lignée germinale, P_n par exemple, on obtient un embryon monstrueux auquel manque l'ébauche somatique qui devait être formée par la cellule S_n+1 issu de P_n. Ajoutons enfin que le processus morphogénique est si exactement réglé dans ce type de développement que Martini et Goldschmidt ont pu démontrer, chez quelques Nématodes adultes, la constance du nombre des cellules sous-cuticulaires et des cellules nerveuses ; ces éléments cessent en effet de se multiplier à la fin de l'évolution embryogénique et subissent un accroissement individuel proportionnel à celui du corps tout entier.

Un cas très différent, en apparence tout au moins, est celui des phénomènes morphogéniques chez les Annélides tels que le Chétoptère et les Néréis étudiés par Lillie. Chez ces animaux, la répartition des éléments vitellins dans l'oocyte en voie de croissance n'est pas la même au pôle fixé et au pôle libre ; il existe donc une polarité dès l'origine et celle-ci se conserve après la ponte lorsque disparaît la vésicule germinative ; la position du premier fuseau de maturation caractérise l'axe de polarité primaire. Si l'on centrifuge ces œufs, on peut déplacer les éléments vitellins à travers le cytoplasma ; le fuseau reste peu mobile et l'on constate, après la pénétration du spermatozoïde, que les globules polaires se forment toujours suivant l'axe de polarité primaire, quelle que soit la polarité actuelle de l'œuf due à la nouvelle répartition du vitellus. Le premier plan de segmentation reste méridien par rapport à l'axe primitif et sépare deux blastomères légèrement inégaux, ce qui détermine un plan de symétrie ; la segmentation s'effectue normalement comme si rien n'était nchagé. Lillie montre ainsi que la polarité de l'œuf de Néréis ou de Chétoptère n'est pas affectée par une nouvelle distribution des éléments vitellins et qu'elle dépend en conséquence de la substance fondamentale du cytoplasma. Cette substance est colloïdale, fluide et visqueuse ; elle peut être brassée par le transport des grains sous

l'action de la force centrifuge sans subir un mouvement d'entraînement général ; Lillie montre cependant que sa résistance n'est pas la même dans toutes les parties de l'œuf ; les éléments figurés ne sont pas ramassés après la centrifugation en strates parallèles superposés par ordre de densité, et leur distribution permet de déceler des zones cytoplasmiques plus résistantes, c'est-à-dire une sorte de structure de la substance fondamentale. Mais cette organisation possible, nécessaire dirons-nous, si l'on veut expliquer l'existence et la persistance d'un axe de polarité et d'un plan de symétrie, est si nettement contradictoire avec l'apparence d'une masse colloïde fluide que Lillie avance la possibilité d'une « organisation moléculaire » et cherche dans une comparaison avec les cristaux liquides un guide pour l'interprétation de ces faits étranges.

L'œuf de Grenouille est un matériel singulièrement favorable pour l'étude des propriétés morphogéniques du protoplasma. Brachet a montré que si l'on touche avec la pointe fine d'une aiguille chauffée un point de la surface de l'œuf, il se produit une nécrose localisée de la masse protoplasmique, une sorte d'escarre minuscule. Si l'on pratique cette opération sur un œuf qui vient d'être fécondé depuis peu, le résultat n'est guère sensible au cours du développement ; la larve se forme normalement et paraît seulement plus petite par suite de la perte de substance qui résulte de ce léger traumatisme. Si l'on effectue la même opération sur un œuf fécondé depuis 1 h. 1/4 à 1 h. 1/2, le résultat est tout à fait différent : la larve est anormale par l'absence d'une région du corps : il semble donc qu'au premier stade la perte d'une région cytoplasmique soit un phénomène réparable, cette région n'intervenant qu'en tant que masse de substance utilisable, tandis qu'au stade suivant elle intervient comme ayant une valeur morphogénique déterminée, comme représentant déjà une partie du corps ; l'étude des phénomènes qui suivent la pénétration du spermatozoïde montre autre chose ; au moment de la ponte, l'œuf présente une polarité manifeste, le pôle inférieur est blanc, tandis que le reste de l'œuf est brun foncé ; le premier globule polaire occupe une fossette sur le côté du pôle supérieur. Une h. 1/2 à 2 h. après la fécondation, la disposition du pigment brun a changé ; d'un côté celui-ci descend plus bas et atteint presque le pôle inférieur blanc dont il est séparé par une démarcation nette, de l'autre il dépasse à peine l'équateur de l'œuf et l'on observe, entre la région pigmentée et la région blanche inférieure, une zone intermédiaire atténuée à ses extrémités : le « croissant gris ». Or l'étude du développement montre que le plan de symétrie de l'embryon passera par les deux pôles de l'œuf et le milieu du croissant gris qui caractérise déjà la région antérieure. C'est précisément à partir de ce stade qu'une

lésion expérimentale d'un point de la surface de l'œuf devient irréparable et correspond chez la larve à l'absence d'une région du corps. Avant même que d'être segmenté, mais seulement à partir de la formation du croissant gris, l'œuf possède une symétrie morphogénique et chaque point de sa masse qui sera plus tard découpé en cellules représente déjà un point du corps de l'embryon.

Comment s'établit cette symétrie primaire ? L'expérience montre que quel que soit le point de pénétration du spermatozoïde, le chemin que parcourt le pronucléus mâle dans le cytoplasma ovulaire pour venir à la rencontre du pronucléus femelle crée ce plan et détermine en conséquence le lieu de formation du croissant gris. Mais si l'œuf est dispermique, le plan de symétrie initial ne passe plus par le trajet de l'un des pronucléi ; il est *exactement* intermédiaire ; et si l'œuf est polyspermique, si un grand nombre de spermatozoïdes ont pénétré ensemble, ce plan devient quelconque, mais il est déterminé quand même un certain temps après l'imprégnation. De nombreuses expériences ont été faites au cours de la segmentation en vue de léser un blastomère déterminé et d'examiner le retentissement de ce traumatisme sur le cours de la morphogenèse. Brachet résume les faits obtenus en disant que « dans l'œuf fécondé de Grenouille, quelle que soit l'orientation du premier plan de segmentation par rapport au plan de symétrie bilatérale, celle-ci se maintient intégralement dans tout le cours du développement ; toutes les parties, et tous les organes primordiaux s'édifient en des endroits déterminés par la constitution matérielle et dynamique de l'œuf. Les localisations germinales de l'œuf sont donc bien des zones formatrices. Fixées en leur place définitive par la fécondation, elles restent immuables, et la segmentation n'y change rien ».

Le cas des œufs parthénogétiques ou polyspermiques montre que ces « localisations germinales » existent déjà dans l'œuf vierge de Grenouille, mais sous une forme provisoire puisqu'une perte de substance est encore réparable, puisqu'une régularisation peut encore se produire ; et sous une forme instable, puisque la fécondation normale, mono ou dispermique, peut encore changer complètement leur orientation avant de la stabiliser.

La morphologie d'une cellule complexe en voie de division va nous montrer un équivalent de ces « localisations germinales » sous un aspect indifférent.

Examinons un Infusoire cilié du groupe des Hypotriches tel que le *Stylonichia*. On sait que cet Infusoire est plat, et que sa ciliature est presque exclusivement ventrale ; on doit distinguer l'appareil péristomien avec la frange adorale d'une part, et les franges ciliaires endorales et parorales de l'autre, et la ciliature somatique propre-

ment dite ; celle-ci est constituée par deux séries latérales de cirres dits marginaux, un groupe de huit cirres latéraux, situés à droite du champ péristomien, cinq cirres ventraux et un groupe de cinq cirres transversaux situés à la partie inférieure de la face ventrale. La situation de chacun de ces cirres est rigoureusement constante,

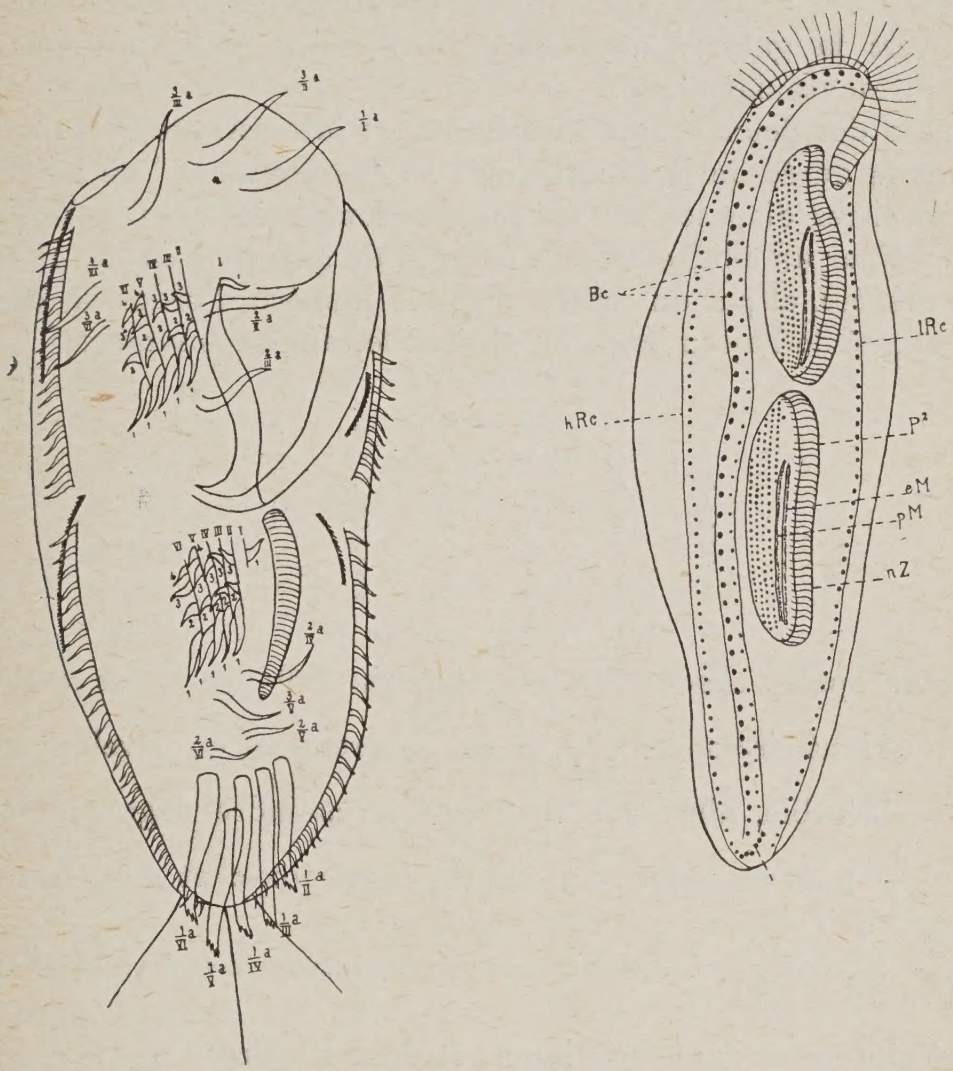


Fig. 3. — Division de *Stylonichia mytilus*, d'après Wallengren.

La ciliature de l'individu persiste, mais on observe deux champs ventraux de cirres néoformés, quatre rangées nouvelles de cirres marginaux et un nouveau péristome.

Fig. 4. — Division de *Holosticha rubra*, d'après le même auteur.

La ciliature ventrale complète de chacune des deux cellules-filles est déjà constituée entre les éléments non altérés de la ciliature primitive. Dans les deux cas représentés, trois formes se trouvent superposées au même moment.

et chacun d'eux possède encore des caractéristiques personnelles dans sa forme et ses dimensions.

Sterki, puis Wallengren, ont montré qu'au tout premier stade de la division, avant même qu'un étranglement du corps de l'Infusoire

indique une bipartition prochaine, de nouveaux éléments ciliaires apparaissent (fig. 3 et 4). Ce sont quatre rangées supplémentaires de cirres marginaux : deux antérieures et deux postérieures ; deux champs de cirres nettement limités ; l'un sur le côté droit du péristome, au-dessous des cirres latéraux, l'autre au-dessous du péristome, entre les cirres abdominaux ; un nouveau péristome enfin, qui se forme vers la gauche, au-dessous de l'ancien, dans une sorte de cavité intracytoplasmique.

L'étude des deux champs ventraux est intéressante à poursuivre pendant la durée de la bipartition ; ils comprennent l'un et l'autre dix-huit cirres disposés sur six rangées longitudinales parallèles. En désignant par un chiffre romain compté de gauche à droite chacune de ces rangées, et par un chiffre arabe le numéro d'ordre de chaque cirre compté de bas en haut, on obtient le tableau suivant :

VI	V	IV	III	II	I
4	4	»	»	»	»
3	3	3	3	3	1
2	2	2	2	2	
1	1	1	1	1	

Bientôt après, chacun de ces champs s'allonge et se déforme, tandis que les 4 cirres $\frac{1}{II}$ $\frac{1}{III}$ $\frac{1}{IV}$ et $\frac{1}{V}$ prennent un développement plus considérable, ainsi que, bien qu'à un moindre degré, les cirres $\frac{1}{I}$ $\frac{2}{II}$ $\frac{3}{II}$; on reconnaîtra peu après dans ceux-ci et dans les cirres $\frac{2}{III}$ $\frac{3}{IV}$ $\frac{3}{VI}$ et $\frac{4}{VI}$ l'ensemble des cirres latéraux avec leursdispositions réciproques caractéristiques, et dans les cirres $\frac{1}{II}$ $\frac{2}{III}$ $\frac{1}{IV}$ $\frac{1}{V}$ le groupe des cirres transversaux. Enfin égrainés sur leurs lignes d'implantation primitives disloquées, les cirres $\frac{2}{IV}$ $\frac{2}{V}$ $\frac{3}{V}$ $\frac{4}{V}$ et $\frac{2}{VI}$ correspondent au groupe des cirres ventraux.

Le nouveau péristome s'est pendant ce temps ouvert à l'extérieur avec sa frange de membranelles adorales et ses deux membranes ondulantes endorales et parorales, puis une constriction du corps indique la séparation prochaine de deux individus.

Il est remarquable de voir qu'à ce stade, si l'on regarde la disposition si précise de l'appareil vibratile, *trois formes se superposent* sur la même masse protoplasmique ; la forme de l'individu primitif,

conservée presque intégralement, et celles de chacun des deux individus nouveaux, intriquées avec la première. Aux stades ultérieurs, les cirres de l'individu primitif, partagés entre les deux cellules-filles, disparaissent et ceux de nouvelle formation prennent leur place.

Répétant, sur un grand Infusoire hypotriche, l'*Urostyla* en cours de division, les célèbres expériences de mérotomie instituées par Balbiani, nous avons obtenu les résultats suivants : si, au début de la bipartition, lorsque l'individu primitif montre une ébauche de constriction médiane, on l'ampute d'une de ses extrémités, correspondant au sixième environ de sa masse totale, la division est arrêtée, l'individu se reconstitue et toute trace de dualité morphologique disparaît. A un stade plus avancé, si, par une section oblique, on isole l'un des futurs individus, plus une fraction de l'autre, on constate que celle-ci forme quelques instants une saillie anormale puis se fusionne et contribue à la reconstitution d'un individu auquel elle ne devait pas appartenir. La même opération étant pratiquée à un stade plus avancé encore, lorsque le nouveau péristome est aussi développé que l'ancien, cette fusion ne se produit plus, le petit fragment s'isole par une constriction qui le détache, et forme un mérozoïte, non viable d'ailleurs.

En résumé, pendant le cours de la bipartition chez l'*Urostyla*, les capacités évolutives d'une région protoplasmique sont tout d'abord indifférentes en quelque sorte, et dépendent d'un facteur quantitatif de proportionnalité. Mais, peu à peu, ces capacités se précisent en même temps que la morphogenèse des cellules-filles et elles se fixent bientôt comme les localisations germinales de l'œuf de Grenouille après la fécondation.

Remarquons bien que, s'il existe à un moment donné dans la masse protoplasmique d'un Infusoire une localisation des capacités évolutives, le problème déjà posé pour les œufs de Néréis et de Chétoptère se pose encore ; en effet, si dans ce dernier cas, le déplacement par centrifugation des inclusions protoplasmiques ne modifie ni la polarité, ni la symétrie de l'œuf, ni les localisations germinales, dans le second cas, les mouvements incessants de la masse protoplasmique interne, la circulation des particules ingérées n'influent pas sur les processus morphogéniques qui, à un moment donné, superposent dans la même cellule trois formes distinctes parfaitement caractérisées.

Un dernier exemple montre encore un autre aspect de ce problème de la forme ; Chatton a réussi, chez un Infusoire Holotriche *Glaucoma scintillans*, à suspendre la division en faisant gonfler l'individu dans un milieu hypotonique ; le sillon de bipartition s'efface dans ce cas, mais le péristome néoformé ne régresse pas. Si l'Infu-

soire est replacé dans un milieu normal, la division ne reprend pas et l'on obtient ainsi un individu à deux bouches ; mais au point de vue des capacités évolutives, cet individu est double, ou si l'on préfère bivalent, et dès la prochaine division il se forme deux nouveaux péristomes ; CHATTON a pu cultiver pendant de nombreuses générations ces individus bivalents.

Il est inutile de citer de nouveaux faits. Les « Potentialités évolutives » et les « Localisations germinales » d'un œuf, tout comme les « Capacités morphogéniques » d'une cellule complexe en voie de division, ne peuvent se manifester que dans des conditions physico-chimiques déterminées et la variation de ces conditions peut à coup sûr, dans certains cas tout au moins, agir sur l'évolution de la forme ; mais cette action possible n'est jamais qu'une sorte de *veto* plus ou moins étendu ou qu'un facteur de détermination entre deux possibilités.

Appliquons à un œuf en voie de développement ou à quelque cellule une définition de la forme donnée par un physicien et admettons que « la forme d'un corps organisé est l'ensemble des positions simultanées occupées par ses éléments constituants ». Tant que ces positions simultanées ont une répartition quelconque dans une masse isotrope homogène, la forme relève directement des conditions physico-chimiques que nous sommes habitués de manier ; mais dès que la cellule devient anisotrope, le problème se complique étrangement et demeure actuellement insoluble, car la comparaison trop lointaine avec les cristaux liquides, par exemple, n'est pas d'une exploitation plus facile que les considérations presque métaphysiques de DRIESCH et la théorie des Entéléchies.

Remarquons en effet qu'une « explication moléculaire de la forme » dans la matière organisée se heurte de prime abord à une difficulté sérieuse : l'ordre de grandeur de la cellule est de 10 à 100. 10^{-4} cm. ; celui des plus fines structures protoplasmiques est de 3 à 10. 10^{-5} ; mais ici commence l'ordre de grandeur des structures colloïdales jusqu'à 10^{-7} puis des grosses molécules de composés organiques jusqu'à 1 à 10. 10^{-8}. Dans quel domaine supposerons-nous le mécanisme moléculaire de la forme ? A quelle étrange stéréochimie pourrons-nous faire appel ? Aucun fait actuel ne saurait le faire prévoir.

Ajoutons une remarque : si nous supposons une stéréochimie cellulaire infiniment complexe, celle-ci ne pourrait pas être statique, elle ne pourrait qu'exprimer une répartition dans l'espace de mécanismes chimiques étroitement liés les uns aux autres, car le propre de l'élément organisé est d'être en perpétuelle transformation, en développement continuel. Ceci nous ramène à la notion d'individu dont l'idée constitue le fond même du terme « Ontogenèse ».

Si l'on considère un organisme supérieur, tel qu'un Vertébré, la notion d'individu est une notion de sens commun ; rien de plus difficile cependant (et M. Henneguy a consacré à cette question une belle étude), que de trouver une définition de ce terme s'adaptant avec une même logique à tous les cas auxquels on doit pouvoir l'appliquer.

Un individu donné n'est jamais semblable à lui-même ; Le Dantec a souvent répété le mot de Pascal invoquant l'action du temps : « On change, on n'est plus la même personne ». La matière dont est constitué l'organisme se renouvelle et la forme qu'elle revêt se modifie profondément. C'est ainsi que ne pouvant séparer l'idée de développement de l'idée d'individu, nous avons successivement considéré un organisme comme une succession de structure ou comme une succession d'états. Si notre bon sens affirme encore que la notion d'individualité demeure légitime, c'est que celle-ci repose sur la notion de continuité entre tous ces états. La courbe de croissance d'un être exprime cette continuité. Mais ce qui caractérise aussi cet individu c'est la forme de cette courbe, ou d'une manière plus générale, l'allure de son développement, et le fait que des états semblables se succédant toujours dans le même ordre chez tous les individus d'une même espèce, ceux-ci possèdent ce que Le Dantec a nommé un « patrimoine héréditaire ». Avec M. Henneguy nous nommerons individu « toute unité vitale ayant une forme, capable de mener une vie autonome et généralement de se reproduire en transmettant à ses descendants un patrimoine héréditaire ».

Il reste à nous demander si les obscurités qui entourent cet aspect fondamental de l'Ontogenèse ne résultent pas en partie d'une erreur de vision. Lorsque nous étudions le développement d'un être, nous découpons en quelque sorte celui-ci en tranches plus ou moins nombreuses caractérisées par leur ordre de succession, et considérées dans un temps nul. Puis nous étudions ces sections dans l'espace et nous trouvons pour chacune d'elles une structure ou une composition particulière, c'est-à-dire une forme ; et celle-ci, suivant la définition donnée plus haut, est bien une « coupe à temps donné ». A ce point de vue purement spacial, l'individu étudié est donc essentiellement multiple.

Nous rétablissons ensuite dans le temps l'ordre de succession des aspects observés, et, comme entre deux aspects différents nous pourrons toujours intercaler un aspect intermédiaire, nous estimons que la série est continue. Au point de vue du temps, l'individu est bien une unité.

Quitte à transporter un jour l'étude de l'individu et des caractères spécifiques de son patrimoine héréditaire dans un domaine où l'es-

pace et le temps séparant deux détails de struture s'exprimeraient par un seul intervalle, nous devons avant tout penser qu'il est impossible de disjoindre, comme nos méthodes nous obligent à le faire, les deux aspects de l'individu que nous venons de caractériser.

BIBLIOGRAPHIE DE L'INTRODUCTION

Aron Max, 1920. De la concomitance entre l'apparition des îlots de Langerhans fonctionnels chez l'embryon et l'établissement de la fonction glycogénique du foie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1447).

Aron Max, 1921. Sur le développement des voies biliaires intrahépatiques et l'établissement de la fonction biliaire du foie (*C. R. séances Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 110).

Aron Max, 1922. L'évolution morphologique et fonctionnelle des îlots endocrines du pancréas embryonnaire (*Arch. Anat. Hist. et Embr.*, t. II, p. 69, 113).

Aron Max, 1922. Le glycogène du foie embryonnaire. Déterminisme de sa formation (*Bull. Soc. Ch. Biol.*, t. IV, n° 4, p. 209, 222).

Boveri, 1910. Die Potenzen der Ascaris Blastomeren. (*Festschr.* R. Hertwig).

Brachet, 1910. *L'œuf et les facteurs de l'ontogenèse.* Paris, Doin.

Calkins, 1911. Effects produced by cutting *Paramaecium* cells (*Biol. Bull.*, vol. XXI, p. 36).

Champy, 1922. L'action de l'extrait thyroïdien sur la multiplication cellulaire (*Arch. de Morph.*, fasc. 4).

Chatton, 1921. Réversion de la scission chez les Ciliés. Réalisation d'individus distomes et polyénergides de *Glaucoma scintillans* se multipliant indéfiniment par scissiparité (*C. R. Ac. Sc.* CLXXIII, 393).

Dawydoff, 1924. Sur le retour d'une Nemerte en inanition à l'état embryonnaire (*C. R. Acad. Sc.* t. CLXXIX p. 1222).

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1921. Divers aspects de la cellule hépatique chez les Têtards de *Rana temporaria* nourris avec de la thyroïde (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 434).

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1921. Étude histologique des phénomènes provoqués chez le Têtard de *Rana temporaria* par l'alimentation thyroïdienne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 437).

Ephrussi et Lwoff, 1923. Sur la double périodicité cyclique de la zone de division chez un Cilié (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVI, p. 930).

Fauré-Fremiet, 1900. La division de l'*Urostyla grandis* (*Bull. Scient. France et Belgique*, t. XLIV, p. 215).

Giroux, 1922. Sur le fonctionnement du pancréas fœtal (*Journ. Phys. et Path. gén.*, t. XX, p. 173).

Henneguy (F.), 1911. La notion de l'individualité en biologie (*Vol. publié en souvenir de Louis Olivier*), Paris.

Herlitzka, 1907. Sur l'ontogenèse des ferments (*Arch. Ital. de Biol.*, t. XLVIII, p. 119).

Langendorff, 1897. Ueber die Entstehung der Verdauungsfermente beim Embryo (*Du Bois Reymond's Arch.* s. 95).

Lillie, 1908. Polarity and bilaterality of the Annelid egg. Experiments with centrifugal force (*Biol. Bull.*, vol. XVI, p. 54-79).

PORCHER et TAPERNOUX, 1920. Sur l'apparition de la lactase dans l'intestin pendant la vie fœtale (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 420).

PORCHER et TAPERNOUX, 1920. Sur l'apparition des ferments digestifs pendant la vie fœtale (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 617).

PORCHER, VORON et TAPERNOUX, Sur l'apparition de la présure pendant la vie fœtale (*C. R. Soc. Biol.* t. LXXXIII, p. 1439).

PREYER, 1885. *Specielle Physiologie des Embryo.* Leipzig.

SCHULZ (E.), 1904. Ueber Reduktionen, I et II. (*Arch. für Entwicklungsmech.* Bd XVIII, p. 555 et Bd XXI, p. 703).

WALLENGREN, 1901. Zur Kenntnis des Neubildungs- und Resorptionsprocesses bei der Teilung der Hypotrichen Infusorien (*Zool. Jahr. Abt. f. Anat.*, Bd. XXV, p. 1).

WEYMANN, 1922. The beginning and development of function in the suprarenal medulla of Pig embryos (*Anat. Record.*, t. XXIV).

WINTREBERT, 1904. Sur l'existence d'une irritabilité excito-motrice primitive indépendante des voies nerveuses chez les embryons de Batraciens (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVII, p. 645).

WINTREBERT, 1918. Le début de l'intervention nerveuse et la position du problème expérimental de l'automatisme locomoteur embryonnaire des Sélaciens (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXI., p. 534).

WINTREBERT, 1920. La conduction médullaire chez les Sélaciens (*Scylliorhinus canicula.* L. Gill) et la fonction présumée des cellules géantes dorsales de Rohon-Beard (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1082).

WINTREBERT, 1920. L'époque d'apparition et le mode d'extension de la sensibilité à la surface du tégument chez les Vertébrés anamniotes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 408).

WINTREBERT, 1920. Les rapports de l'irritabilité ectodermique aneurale avec les fonctionnements musculaire et nerveux chez les embryons d'Amphibiens (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 583).

WINTREBERT, 1920. La conduction aneurale de l'ectoderme chez les embryons d'Amphibiens (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 680).

WINTREBERT, 1920. Les fonctions embryonnaires des appareils de relation chez les Vertébrés anamniotes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 927).

WINTREBERT, 1921. La contraction rythmée aneurale des myotomes chez les embryons de Sélaciens. L'observation de *Scylliorhinus canicula* L. Gill (*Thèse de Doctorat ès Sciences*, Paris).

YOUNG (D.-B.), 1922. A contribution to the morphology and physiology of the genus *Uronychia* (*Journal of exp. Zool.*, vol. XXXVI, p. 353).

CHAPITRE PREMIER

Le système cellulaire au point de vue statique

1. **Généralités.** — Toute cellule dont la dimension moyenne est suffisante pour rester compatible avec les moyens de l'observation microscopique directe, apparaît comme un système hétérogène comportant au moins deux parties distinctes : le cytoplasma et le noyau (1). Avant d'aborder l'étude des phénomènes de croissance cellulaire, qui sont généralement liés à ceux de la multiplication, nous devons examiner quel est l'état physico-chimique de ces deux constituants essentiels de la cellule et quels sont les facteurs qui agissent sur cet état, soit pour le maintenir, soit pour le faire varier. Nous considérerons alors le système cellulaire pendant un temps très court et nous étudierons en quelque sorte ses conditions d'équilibre statique.

Un grand nombre de cellules peuvent être examinées à l'état vivant, et beaucoup de détails de structure peuvent être nettement distingués dans ces conditions. Cependant, presque toutes nos connaissances morphologiques sur les éléments constituant les tissus des Métazoaires ont été acquises grâce aux techniques histologiques et cytologiques modernes. Celles-ci reposent sur l'emploi des réactifs dits *fixateurs*, des méthodes permettant d'effectuer des coupes fines, et enfin de la fixation élective, par teinture directe ou indirecte, progressive ou régressive, de substances colorantes sur les parties distinctes du corps cellulaire.

On sait que les techniques histologiques, en même temps qu'elles immobilisent, qu'elles *fixent* les grandes lignes de la structure cellulaire et permettent d'en différencier les éléments, déterminent dans le détail des structures artificielles.

Dès 1881, Schwarz attirait l'attention des histologistes sur le fait général que les réactifs fixateurs sont des agents coagulants à l'égard des substances albuminoïdes ; en modifiant l'état physique de ces substances, ils produisent des structures nouvelles d'ordre microscopique : granules, filaments, réseaux. Ce sont ces structures que Fischer étudiait en 1899 en faisant agir sur des albuminoïdes inclus

(1) Nous n'insisterons pas ici sur la définition de ces termes classiques non plus que sur la question de l'existence d'un noyau chez les Bactéries. On consultera sur ce point les ouvrages spéciaux de Cytologie et de Protistologie ; voir aussi *La Vie cellulaire, Eléments de Cytologie*, par M. le professeur Henneguy, Paris, 1923.

dans les interstices de la moelle de sureau, un grand nombre d'agents chimiques précipitants et coagulants ; les nombreuses figures publiées par cet auteur attestent la diversité des structures microscopiques que l'on peut réaliser dans une pseudo-solution aqueuse dont l'aspect primitif est homogène. Les diverses structures granulaire, filaire, réticulée, etc., attribuées au « protoplasma » par différents observateurs, seraient du même ordre. En 1896 Henneguy examine la structure protoplasmique d'une même espèce cellulaire, telle qu'elle se présente après fixation par des réactifs variés ; il constate que cette structure est extrêmement variable, ainsi que le volume même de la cellule considérée. La même comparaison a été faite par Chodat sur des cellules végétales fixées de diverses manières.

Les résultats de ces recherches montrent indubitablement que l'état du « protoplasma » dans la cellule vivante est essentiellement différent de celui que l'on observe après l'usage des méthodes histologiques.

Dujardin décrivant sous le nom de « sarcode » le cytoplasma des Infusoires ciliés qu'il étudiait *in vivo*, écrivait en 1835 : « Cette substance se montre parfaitement homogène, élastique et contractile, diaphane et réfractant la lumière un peu plus que l'eau et beaucoup moins que l'huile. On n'y distingue absolument aucune trace d'organisation, ni fibres, ni membranes, ni apparence de cellulosité. Isolée dans l'eau par diffluence de l'Infusoire, elle forme des masses globuleuses qui peuvent se creuser spontanément de vacuoles ; mais ceci pourrait être un phénomène physique et non organique. Ses propriétés d'être insoluble, mais décomposable dans l'eau, d'être coagulée par l'acide nitrique, par l'alcool et par la chaleur, de se dissoudre bien moins que l'albumine dans la potasse, qui paraît seulement hâter sa décomposition par l'eau, sa faible réfringence et ses caractères de viscosité et d'élasticité m'avaient paru suffire pour la distinguer des autres produits de l'organisme tels que l'albumine, le mucus et la gélatine. La singulière faculté de se creuser de vacuoles remplies d'eau m'avait paru tenir à un reste de vitalité qui l'aurait encore plus essentiellement distinguée des substances que j'ai citées. Mais nous connaissons si peu ce que l'on a confondu sous le nom commun d'albumine qu'il n'est peut-être pas impossible que diverses substances, essentiellement différentes, aient les caractères que j'ai assignés au sarcode ».

Cette description, vieille de près de quatre-vingt-dix ans, est restée plus exacte que beaucoup d'autres, plus modernes cependant ; c'est qu'elle situe au premier plan les propriétés physico-chimiques du protoplasma vivant : viscosité et coagulabilité, réfringence, insolubilité dans l'eau, mais faculté d'absorber ce liquide qui peut ensuite se séparer sous forme de vacuoles, etc... Or ces propriétés ont été re-

trouvées chez nombre de substances organiques à l'état colloïdal, et semblent dépendre non seulement de la composition chimique de ces substances, mais encore et surtout de leur état physique particulièrement complexe ; cependant la description du sarcode de Dujardin n'est que rarement citée et ce sont surtout les travaux de Schwarz et de Fischer qui semblent avoir orienté les recherches cytologiques dans une voie nouvelle : l'extension à la matière vivante des données fournies par l'étude des colloïdes. Nous examinerons successivement à ce point de vue le cytoplasma et le noyau.

2. **Le cytoplasma et l'état colloïdal.** — En 1904, Greeley étudie le cytoplasma de *Paramaecium* et constate, en étudiant l'action de différents corps, une différence profonde entre effets produits par les électrolytes et les non-électrolytes. Les cristalloïdes non électrolytes agissent en modifiant l'équilibre osmotique de l'Infusoire avec le milieu extérieur, comme si la cellule était entourée par une membrane hémiperméable. Les électrolytes agissent encore de même, mais on constate d'autre part que les cathions $^+$ précipitent le cytoplasma, tandis que les anions $^-$ le rendent plus fluide ; mais ce résultat n'est réalisé que si l'Infusoire se trouve en milieu neutre ou légèrement alcalin, tandis qu'en milieu légèrement acide les phénomènes peuvent s'inverser. Greeley conclut que le cytoplasma peut être considéré comme une solution colloïdale dont les particules possèdent une charge négative en milieu alcalin.

Plusieurs travaux importants sont publiés à partir de ce moment sur la structure et la composition du cytoplasma envisagées au point de vue physico-chimique ; citons ici les ouvrages et les mémoires de Höber (1906, 1911), de Loeb (1906), etc. ; dans un important rapport publié en 1906, Mann résume ces recherches nouvelles, et conclut lui aussi à la nature colloïdale du cytoplasma vivant ; enfin l'application aux recherches cytologiques du dispositif ultramicroscopique, sous la forme de l'appareil d'éclairage sur fond noir permet de préciser ces données.

Gaidukoff (1907 et 1910) observe, dans nombre de cellules végétales, l'existence de particules brillantes animées de mouvements browniens, et pense que le cytoplasma de ces cellules est un colloïde fluide de la catégorie des « sols ». Mais la cellule végétale, avec son suc cellulaire très développé, est un système complexe dans lequel le cytoplasma proprement dit est souvent réduit à une couche pariétale et à quelques tractus visqueux. Les observations et les conclusions de Gaidukoff ont été reprises et critiquées par Leblond (1919) et Lapicque (1922).

L'observation de diverses cellules animales donne des résultats

assez différents ; MAYER et SCHAEFFER (1908) examinent *in vivo*, avec l'éclairage ultramicroscopique, des Protozoaires, des cellules sanguines, ou des éléments obtenus par la dissociation d'organes frais dans un liquide physiologique approprié. Ces auteurs constatent bien la présence de granules brillants dans la substance cytoplasmique, mais ceux-ci, à l'encontre des observations faites sur la cellule végétale, ne sont jamais animés de mouvements browniens.

Quand ces granulations sont rares, le cytoplasma vivant paraît obscur, et semble optiquement vide. Les observations de FAURÉ-FREMIET sur divers Infusoires et Amœbiens examinés soit en lumière directe, soit en éclairage latéral (1905 à 1908) donnent des résultats identiques ; chez ces microorganismes, la substance fondamentale du cytoplasma est homogène et optiquement vide, fluide mais visqueuse. Elle renferme en suspension des granulations diverses, plus ou moins réfringentes : gouttelettes huileuses et autres, mitochondries, etc. ; ces inclusions ne sont animées de mouvements browniens qu'au cours de certaines altérations. MAYER et SCHAEFFER considèrent cette substance cytoplasmique fondamentale comme un gel fluide dont la réaction est légèrement alcaline.

Quels sont les caractères des gels ? Ces mêmes auteurs indiquent les particularités suivantes :

a) Les gels présentent une forte viscosité, de sorte que les mouvements browniens des particules qu'ils renferment sont fortement ralentis ou nuls ;

b) Les gels et particulièrement les hydrogels se transportent en masse dans un champ électrique, en entraînant le liquide intermicellaire ;

c) Leur filtration est toujours très difficile, ainsi que la séparation du liquide intergranulaire ;

d) Ils se précipitent en masses emprisonnant du liquide ;

e) Les gels, et les hydrogels en particulier, sont des colloïdes stables ; les granules ont avec le solvant une forte liaison ; ils sont imbibés par le solvant et forment avec lui une masse homogène.

MAYER et SCHAEFFER retrouvent ces propriétés dans le cytoplasma des cellules animales ; comme tous les gels alcalins (ou négatifs) le cytoplasma se trouble puis se précipite sous l'action de l'ion H^+ des acides, tandis qu'il devient plus homogène et plus fluide sous l'action de l'ion OH^- des alcalis ; les sels de métaux lourds agissent par leur cathion comme les acides.

AGAZZOTTI (1910) étudie les globules rouges du *Spelerpes* et ne constate, en dehors de l'anneau périphérique décrit par MEVES, qui est réfringent, aucune structure microscopique du cytoplasma ; celui-ci se comporte comme un gel au sens de MAYER et SCHAEFFER,

mais il suffit de placer les globules rouges dans une solution de NaCl, ou même dans un sérum physiologique artificiel, pour changer l'état de ce gel et déterminer la formation de granulins brillants.

Russo (1910 et 1911) examine les leucocytes des Mammifères et réunit un grand nombre de documents sur l'état colloïdal du cytoplasma, les mouvements des granulations, l'action de divers agents physiques et chimiques.

Marinesco (1912) effectue de nombreuses observations *in vivo* et avec l'éclairage ultramicroscopique sur les cellules nerveuses ganglionnaires spinales et sympathiques de Chiens et de Chats nouveau-nés ou adultes ; n'observant l'existence de mouvements browniens dans le cytoplasma de ces cellules que d'une manière tout à fait exceptionnelle, il considère ce cytoplasma comme un complexe colloïdal très visqueux ou même comme un gel. Il étudie en détail les variations de luminosité du gel cytoplasmique sous l'action de la température et les aspects de sa précipitation par différents réactifs fixateurs.

Plus récemment G. Levi (1917), puis Chambers (1921) ont étudié les propriétés physiques du cytoplasma de nombreuses cellules : éléments conjonctifs cultivés *in vitro*, cellules dissociées, oocytes, Protozoaires. Les méthodes de microdissection perfectionnées par Chambers permettent d'estimer la consistance des colloïdes cytoplasmiques que ces auteurs admettent transformable, de manière réversible, en sol ou en gel. Il importe de remarquer ici, pour la commodité des comparaisons entre les résultats obtenus par différents auteurs, que le sens des termes gel et sol n'est pas toujours équivalent. Mayer et Schaeffer ont résumé dans le tableau suivant les caractéristiques des sols, des gels et des gelées, et les états correspondants de ces trois catégories de colloïdes.

a) Sols	*b*) Gels	*c*) Gelées
Granules ayant une faible liaison avec le solvant.	Granules liés au solvant et imbibés par lui. Solutions visqueuses.	Granules fortement liés au solvant ; fortement imbibés par lui Solutions très visqueuses.
Solutions microscopiques.	Pâtes (ex : hydroxydes).	Gelées emprisonnant des cristaux (ex. : savons).
Solutions ultramicroscopiques (granulins animés de mouvements browniens).	Hydrogels vrais (hydrates colloïdaux, blanc d'œuf, plasma, etc.).	Gelées vraies (gélatine, agar, savons dans l'alcool, collodion).
Mélanges de suspensions.		Empois (ex. : amidon).

Bottazzi (1911), dans son très important travail d'ensemble sur le cytoplasma, examine cette terminologie ; pour lui, le cytoplasma vivant, dans les conditions normales, est bien un gel au sens de Mayer et Schaeffer, mais au terme d' « hydrogel » (fluide ou liquide) correspond souvent la dénomination de « solution colloïdale » ou d' « hydrosol » employée par les auteurs américains (Chambers) pour désigner des colloïdes dont les micelles, fortement liées à l'eau, sont invisibles à l'ultramicroscope soit à cause de leurs dimensions trop petites, soit à cause d'une trop faible différence des indices de réfraction.

Dans cette interprétation le terme « hydrogel » correspond au terme « gelée » employé par Mayer et Schaeffer pour désigner des gels solides (1). Dans les deux cas, les micelles du colloïde sont gonflées par le solvant (eau) et celui-ci peut renfermer d'autre part, en solution vraie, des cristalloïdes : électrolytes, etc.

On verra plus loin que Chambers, Heilbrunn, etc., admettent la transformation réversible du cytoplasma de l'état de sol à l'état de gel caractérisé par une consistance voisine de l'état solide, en comprenant ces termes dans le sens précisé par Bottazzi. L'état de « sol » au sens de Mayer et Schaeffer n'apparaît que dans des conditions anormales, ou dans certains liquides tels que le suc cellulaire ; il correspond alors à l'état désigné autrement sous le nom de « suspension » et peut être le début d'une floculation ou d'une précipitation au cours de laquelle la liaison de la substance à l'état colloïdal avec l'eau diminue considérablement (2).

3. **Le cytoplasma système hétérogène.** — Les recherches citées plus haut démontrent que le cytoplasma vivant se comporte comme un colloïde, et plus spécialement comme un hydrogel (Mayer et Schaeffer) plus ou moins fluide ; c'est donc un système hétérogène dans lequel il faut distinguer un solvant ou liquide intermicellaire, qui est ici de l'eau contenant en solution des cristalloïdes variés : électrolytes et non-électrolytes ; et d'autre part les micelles constituées par la ou les substances à l'état colloïdal.

Mais le cytoplasma présente un degré d'hétérogénéité plus complexe et doit être considéré comme un mélange de colloïdes et d'autres substances ; parmi celles-ci les lipoïdes jouent un rôle particulièrement important.

---

(1) La propriété caracteristique des gelées est moins la viscosité que la rigidité (c'est-à-dire l'inverse de l'élasticité).

(2) Il n'entre pas dans le cadre de cet ouvrage d'aborder la question des colloïdes. Nous renvoyons pour plus de détail à l'ouvrage de Bottazzi et à l'excellente adaptation qu'en a donnée J. Verne (1923), ainsi qu'aux ouvrages spéciaux (voir Duclaux, 1922) et aux travaux de Loeb sur la gélatine ; ceux-ci présentent, sous un aspect nouveau, toute une catégorie de « colloïdaux » dont le rôle biologique est peut-être très important.

On sait que l'on désigne sous le nom général de lipoïdes (1) des substances dont le caractère commun est la solubilité dans le benzène, l'éther, etc., mais qui peuvent être aussi différentes les unes des autres que les éthers de la glycérine (graisses neutres), les phosphatides (lécithines), les alcools à poids moléculaire élevé (spermaceti), les alcools cycliques (cholestérine) ou même des carbures. Tous ces corps ont un autre caractère physique commun : leur solubilité très faible ou nulle dans l'eau. La présence de telles substances dans le cytoplasma, c'est-à-dire dans un hydrogel constitué par des substances azotées du groupe des albuminoïdes, doit évidemment compliquer ses conditions d'hétérogénéité.

Dujardin avait déjà montré que le cytoplasma (ou sarcode) de certaines espèces d'Infusoires difflue au contact de l'eau sitôt que la cuticule entourant le corps cellulaire est lésée, tandis que chez d'autres espèces, le cytoplasma n'est pas miscible à l'eau et forme au contact de ce liquide, lorsqu'il exsude, des gouttelettes persistantes, des « boules sarcodiques ». On détermine facilement l'apparition de ces boules en exerçant une pression sur l'Infusoire ; elles apparaissent comme des gouttelettes fluides, transparentes en lumière directe, un peu plus réfringentes que l'eau ; elles paraissent optiquement vides avec l'éclairage latéral, sauf lorsqu'elles ont entraîné des granulations ; leur substance, essentiellement formée de cytoplasma, se comporte bien comme un hydrogel, mais comme un hydrogel non miscible avec l'eau. On constate facilement d'ailleurs que les électrolytes peuvent modifier les propriétés physiques de ces exsudations : le cytoplasma de l'œuf de *Sabellaria* par exemple (Fauré-Fremiet 1922 et 1924) difflue très rapidement dans une solution de NaCl isotonique à l'eau de mer, tandis qu'en présence d'un cathion bivalent alcalino-terreux, dans une solution de même concentration moléculaire de $CaCl^2$ par exemple, il forme des « boules sarcodiques » typiques et persistantes.

Maggi (1876) suppose que la non-miscibilité avec l'eau des « boules sarcodiques » est due à la présence d'une substance grasse analogue à la myéline ; on sait en effet que cette substance forme au contact de l'eau des figures caractéristiques et biréfringentes en forme de gouttelettes étirées et souvent vacuolisées ou de boyaux allongés. Ces « figures myéliniques » peuvent être reproduites artificiellement en émulsionnant des corps gras avec de l'eau, tout en provoquant la formation d'une petite quantité de savon ; telles sont les expériences de Liebreicht (1863) et de Neubauer (1866) qui ntiliseut des mélanges d'acide oléique et d'ammoniaque, des émulsions de lécithine et

(1) Le terme lipide a été adopté récemment par l'Union internationale de chimie pure et appliquée.

d'eau, des solutions alcooliques de protagon additionnées d'acides gras et d'une base, neurine, ammoniaque, soude ou potasse, puis mélangées à l'eau ; ou encore celles de White (1908) qui émulsionne dans l'eau des mélanges de cholestérine et de savons de potasse.

Kölsch (1902), reprenant l'hypothèse de Maggi, distingue deux catégories différentes d'exsudations cytoplasmiques : les « boules sarcodiques » de Dujardin, très aqueuses, qu'il nomme « figures para-myéliniques », et les figures myéliniques proprement dites, exactement comparables à celles de Neubauer, de Liebreicht et de White, qui seraient formées au moment de la désintégration du cytoplasma par des combinaisons d'acides gras et d'amines ; ces dernières se colorent fortement par le rouge neutre (fig. 5), mais elles ne sont pas biréfringentes.

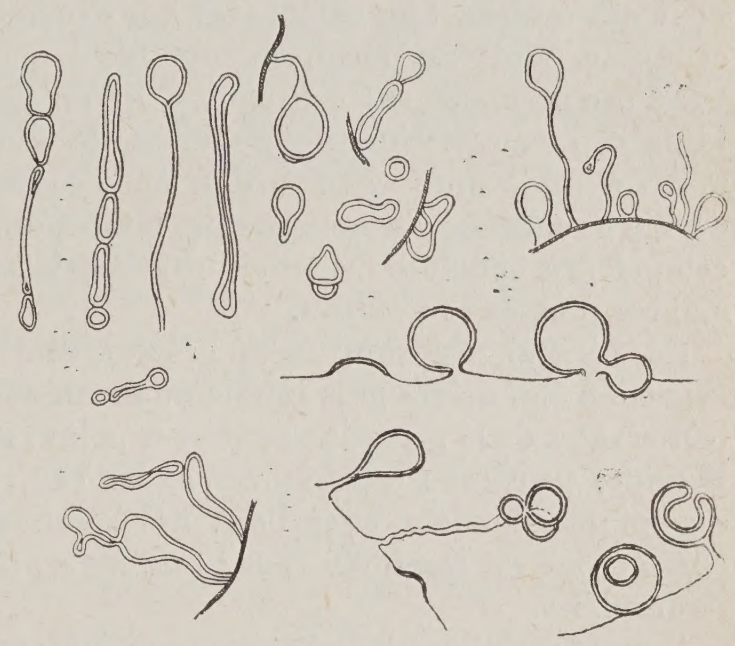


Fig. 5. — En haut et à gauche, figures myéliniques données par quelques Infusoires Hypotriches, d'après Kölsch. — En bas et à droite, figures myéliniques dues à l'altération de l'ectoplasma d'*Epiclintes ambiguus*.

Albrecht (1906), à propos du rapport déjà cité de Mann, insiste sur la signification importante des figures myéliniques à l'égard des conceptions physico-chimiques de la cellule, puisqu'elles indiquent l'existence de substances grasses au sein du cytoplasma. Schneider (1906), Prowazeck (1910) concluent également, de leurs recherches sur les Protozoaires, à l'existence de matières grasses diffuses dans le cytoplasma. Launoy (1908) observe la formation d'inclusions lipoïdes intracellulaires au cours de l'autolyse aseptique de fragments de tissu hépatique ; il pense que ce sont des complexes lipoprotéidiques ou lipoïdes formés au moment de la mort et aux dépens des substances grasses cytoplasmiques.

Indépendamment de ces observations morphologiques, l'analyse chimique avait déjà montré la présence de substances grasses chez diverses espèces de cellules. Les recherches systématiques de Mayer et Schaeffer permettent de considérer les lipoïdes comme des constituants normaux de tous les protoplasmas, dans lesquels ils existent sous différentes formes : phosphatides, cholestérine et éthers

de la cholestérine, graisses neutres (éthers de la glycérine), savons (voir Lemeland 1921 et 1922). Ces recherches sont particulièrement importantes au point de vue de la constitution physico-chimique du cytoplasma. En effet Mayer et Schaeffer étudiant la répartition quantitative des acides gras, de la cholestérine et du phosphore lipoïdique dans différents tissus et chez diverses espèces animales, montrent que, pour chaque espèce cellulaire, les rapports quantitatifs de ces substances sont constants. Le rapport quantitatif de la cholestérine aux acides gras, par exemple, est une « constante » cellulaire. Mais ces résultats sont liés à d'autres mesures ; la quantité d'eau normalement contenue dans un tissu, elle aussi, est constante et caractéristique ; elle semble liée à la constante lipocytique, et cette importante constatation nous ramène devant le problème de l'hétérogénéité du cytoplasma, c'est-à-dire de la répartition dans celui-ci des colloïdes hydratés (hydrogels albuminoïdes), des substances grasses et de l'eau.

En général, les substances grasses sont insolubles. dans l'eau ; cependant les acides gras inférieurs saturés sont solubles tandis que leurs éthers de la glycérine ne le sont point ; les lécithines et les phosphatides peuvent s'émulsionner avec l'eau ; les savons de soude et de potasse donnent avec l'eau des solutions colloïdales ; enfin la cholestérine est insoluble dans l'eau, mais ses éthers sont légèrement hydrophiles.

Dans le cas d'un mélange complexe, il faudra toujours tenir compte des phénomènes de miscibilité réciproque de ces différents corps ; c'est ainsi par exemple que des savons de potasse insolubles dans l'éther anhydre seront solubles dans une solution éthérée d'acides gras ; il en est inversement de même à l'égard de l'eau. Mayer et Schaeffer rappellent que l'on peut réaliser des complexes colloïdaux lipo-protéidiques tels que des lécithalbumines. Si, dans des complexes de cet ordre, on augmente la proportion des corps gras insolubles dans l'eau, on diminue la liaison avec ce solvant et les substances insolubles se séparent, ou la quantité d'eau qui imbibe le système diminue ; si au contraire on augmente la proportion de la cholestérine ou de ses éthers, on augmente la liaison avec l'eau et l'on peut obtenir un mélange hydraté riche en lipoïdes.

On peut donc concevoir l'existence de mélanges en apparence homogènes, constitués par un hydrogel albuminoïde et par des substances lipoïdes ; mais dans un tel mélange, il suffira d'augmenter même légèrement la proportion des constituants insolubles dans l'eau pour qu'une partie de ceux-ci se sépare et constitue une phase nouvelle. On réalise ainsi un système hétérogène plus complexe que le système colloïdal primitif. Au point de vue cytologique, ce phéno-

mène se traduira par la séparation dans le cytoplasma de deux phases, l'une aqueuse et déjà complexe de par sa nature colloïdale (hydrogel) et l'autre, peu ou pas hydratée, de nature lipoïde ou lipoprotéidique.

Zwaardemaker a considéré le protoplasma en général et la cellule en particulier comme un système hétérogène polyphasique ; cette conception a été appliquée à différents cas par Prowazeck (1910), Fauré-Fremiet (1912), Herlant (1920), etc. La structure cellulaire et ses variations doivent être considérées, dès lors, comme dépendant des conditions d'équilibre entre les différentes phases. Une remarque est ici nécessaire ; considérons les conditions d'équilibre chimique ; la constance de la masse m d'un corps pur A dans une phase signifie que sa vitesse de transformation est nulle, c'est-à-dire que $\frac{dm}{dt} = 0$; ou, dans le cas d'une transformation réversible telle que $A \leftrightarrows B$, que la vitesse des deux transformations possibles est égale et qu'un équilibre s'établit entre elles. Ceci ne peut être vrai dans une cellule que pendant un temps très court ou nul.

Les constantes cellulaires de Mayer et Schaeffer n'expriment pas un tel équilibre. Elles signifient simplement qu'il existe un équilibre d'ordre statistique entre les constituants de chaque cellule. En effet les dosages chimiques sont toujours effectués sur des masses de tissus comprenant au moins 1 à 15.10^8 éléments cellulaires dont les variations propres de composition sont de grandeur inconnue ; ces variations existent cependant comme on le verra plus loin en étudiant la division cellulaire ; si la composition globale du tissu demeure constante, cela ne signifie pas que dans une masse cytoplasmique donnée la vitesse de transformation de l'un des constituants soit nulle, mais seulement que les rapports des vitesses de transformations possibles sont constants.

Zwaardemaker a tenté d'appliquer la règle des phases au problème de la structure cellulaire ou protoplasmique. On sait que, dans le cas d'un système hétérogène polyphasique, on doit considérer trois grandeurs variables : la complexité chimique du système, son degré d'hétérogénéité, sa variance ; ces grandeurs sont reliées entre elles par l'équation :

$$N + 2 - \varphi = V \text{ ou } \varphi = N + 2 - V$$

N exprimant le nombre des constituants indépendants (complexité chimique), φ le nombre des phases (degré d'hétérogénéité), V la variance.

Supposons schématiquement le cas d'un cytoplasma alcalin, contenant des globules huileux ; les constituants indépendants

seront au minimum au nombre de 7 : eau, ions hydroxyles, albuminoïdes, acides gras, glycérine, glycérides, savons.

Nous trouvons une phase continue aqueuse contenant les ions OH, des albuminoïdes, de la glycérine et des savons en solution ; et au moins trois phases dispersées . granules (ou micelles) d'albuminoïdes, granules de savons à l'état colloïdal, globules de glycérides insolubles. Le nombre minimum des phases est de 4. Les facteurs d'équilibre à considérer dans un temps très court peuvent se ramener à 2 : la température et la pression osmotique. En appliquant la règle de Gibbs on trouve :

$$N + 2 - \varphi = V$$

ce qui donne

$$7 + 2 - 4 = 5$$

et le système serait en réalité pentavariant, ou bien le système est divariant ce qui donne

$$7 + 2 - 2 = 7$$

et il doit contenir 7 phases distinctes, alors que 4 seulement sont visibles à l'ultra-microscope.

En résumé, si le système ne contient que 4 phrases, il doit être pentavariant ; s'il est divariant, il doit contenir 7 phases. Ces déductions pourraient être utilisables si deux au moins des grandeurs envisagées pouvaient être exactement connues ; mais on sait déjà que dans le cas simple d'un système de corps exactement déterminé, tel qu'un mélange de sels donnant une double décomposition (Dubreuil 1920, Raveau 1920) ou un alliage (Urbain 1920-1922), les conditions peuvent être différentes suivant le couple dont on part, de sorte que « le nombre des constituants indépendants ne peut être connu que quand on s'est rendu un compte exact de ce qui doit se passer » (Raveau). A plus forte raison, le nombre des constituants est-il impossible à déterminer dans un système aussi complexe que le protoplasma cellulaire, dont l'exemple précédent n'est qu'un schéma simplifié à l'extrême.

En ce qui concerne la variance, la même remarque s'impose ; dans les cas les plus simples, Le Chatelier (1920) montre l'utilité d'une expression comprenant un terme φ qui représente les conditions initiales (1) et remarque que l'intervention des tensions superficielles, dans le cas d'une phase dispersée à granules très petits, augmente d'une unité le nombre des tensions d'énergie p ; les différences de pres-

(1) Le Chatelier (1920) écrit : « Soit un système chimique composé d'un certain nombre de phases, c'est-à-dire de masses homogènes considérées, abstraction faite du volume total et de la forme de chacune de ces masses, sous la seule condition que les rayons de courbure des surfaces de séparation de ces phases soient suffisamment grands, pratiquement supérieurs 1/1000 de millimètre. (Cette limite de 10^{-4} cent. est précisément l'ordre de grandeur des struc-

sion d'une phase à une autre augmentent encore ce nombre p d'une unité. Enfin la formule ne peut s'appliquer qu'aux cas où l'énergie de surface est identique en tous les points d'une même phase (ce qui implique l'égalité de volume de tous les éléments d'une phase dispersée), et ne s'applique plus s'il existe dans une même phase des variations d'énergie d'un point à un autre, ou bien une inégale répartition des températures ou des pressions, ce qui peut être le cas des colloïdes.

En résumé, la complexité du système cellulaire s'oppose à la connaissance préalable de nombre des constituants indépendants, lesquels ne peuvent être que sous-estimés dans une large mesure ; d'autre part l'ordre de grandeur des structures cellulaires ne permet pas « de négliger les forces que les différentes parties du système exercent les unes sur les autres ». R. Wurmser (1923) appuie sur cette dernière remarque une critique de l'application de la règle des phases à la solution du problème de l'hétérogénéité cellulaire, et pense que « l'on doit renoncer à tirer parti de conceptions très intéressantes et vraisemblablement exactes, comme celle de Zwaardemaker, tendant à considérer le protoplasma comme un système constitué de plusieurs phases en équilibre ». L'exemple proposé plus haut montre donc seulement que le degré d'hétérogénéité du système protoplasmique est probablement élevé, et que ce système, dont l'équilibre est soumis à la température, à la pression osmotique et aux forces moléculaires, doit être au moins trivariant.

En réalité, l'intérêt de cette conception physico-chimique est tout entier dans une question de principe, celui d'une liaison néces-

---

tures internes cellulaires.) Pour définir complètement toutes ces phases, il faut se donner la température, la pression et, plus généralement, les tensions d'énergie de chacune d'elles. Soit p le nombre de ces tensions et r celui des phases, cela fait pr conditions distinctes. Il faut se donner ensuite la composition de chacune de ces phases, c'est-à-dire le rapport des masses des divers composés chimiques en présence dans chaque phase, moins un, à la masse de ce dernier. Si m est le nombre des constituants réels de chaque phase, le nombre total des conditions de composition sera :

$$(m - 1)\, r,$$

cela fait donc au total, pour définir complètement le système, en l'absence de tout phénomène d'équilibre, un nombre de conditions égales à

$$pr + (m - 1)\, r.$$

S'il existe à l'intérieur du système des phénomènes d'équilibre, ces grandeurs cessent d'être toutes isolément modifiables ; chaque équilibre partiel introduit une équation de condition, qui diminue d'une unité le nombre des variables réellement indépendantes.

Dans le cas où l'on admet l'équilibre des tensions d'énergie entre toutes les phases, l'équilibre de saturation de tous les constituants entre les différentes phases et enfin l'existence d'un certain nombre de réactions chimiques réversibles q, le nombre des variables indépendantes est réduit de

$$p\,(r - 1) + m\,(r - 1) + q.$$

En soustrayant ce nombre de celui des conditions nécessaires pour définir l'état du système, on a la variance totale, c'est-à-dire le nombre des variables dont on peut disposer librement, malgré les liaisons exigées par les phénomènes d'équilibre :

V	+	v	=	m	−	q	+	p	−	r
Variance finale		Conditions initiales		Constituants réels		Réactions réversibles		Tensions d'énergie		Phases coexistantes.

saire entre tous les éléments qui entrent dans la composition du cytoplasma, que ce soit la substance fondamentale ou des inclusions de nature diverses : mitochondries, granulations deutoplasmiques (1), etc. L'idée que la règle des phases doit être applicable au système cellulaire, ou d'une manière plus restreinte au cytoplasma, permet encore d'attirer l'attention sur l'importance de l'état de dispersion d'une phase considérée puisque les transformations qui règlent l'équilibre du système s'effectuent à la surface de séparation des phases coexistantes, et que celle-ci augmente considérablement avec le degré de dispersion. Cette idée permet encore de concevoir que l'hétérogénéité du protoplasma, c'est-à-dire sa structure, visible ou non, ne peut exister sous une certaine forme que dans des conditions déterminées de température et de pression, par exemple, et qu'il doit exister des températures ou des pressions critiques qui limitent les possibilités d'équilibre d'un tel système.

Remarquons maintenant que la substance fondamentale du cytoplasma, optiquement homogène à l'ultra-microscope, constitue déjà un système, qui du fait de sa nature colloïdale (hydrogel) est au minimum d'ordre 2 et que l'hypothèse la plus simple, celle qui considère en première approximation le cytoplasma comme une émulsion d'albuminoïdes et de lipoïdes (Wilson, Loeb, Herlant) (2) suppose un système au minimum d'ordre 3.

4. **Les différents types de structures cytoplasmiques hétérogènes.** — Les Infusoires ciliés possèdent une masse cytoplasmique assez importante pour rendre commode l'étude ultra-microscopique de sa structure à l'état vivant. Dans la « substance fondamentale » qui constitue un gel optiquement vide ou parfois légèrement opalescent, on observe les mitochondries, sous l'aspect de sphérules pâles, et des inclusions diverses plus réfringentes (Fauré-Fremiet 1908 à 1910).

Prowazeck, chez le *Colpidium colpoda*, trouve le cytoplasma presque optiquement vide à l'éclairage sur fond noir, avec cependant une opalescence jaunâtre ; mais l'action de certains corps (taurocholate de soude, saponine, etc.), produit la « cavulation » du cytoplasma, en lui communiquant une structure alvéolaire.

Prowazeck conclut à la préexistence d'une structure hétérogène qui s'accentue dans les conditions expérimentales indiquées. Le cytoplasma serait un système biphasique, un « émulsoïde » d'albuminoïdes et de lipoïdes dans lesquels les premières substances cons-

(1) Ce point de vue est évidemment tout autre que celui qui consiste à chercher si une différenciation cellulaire est plus ou moins vivante qu'une autre ou bien à déterminer la hiérarchie des protoplasmas supérieurs et inférieurs.

(2) Cette conception n'est pas identique à celle des mousses de Bütschli.

titueraient la phase continue (déjà hétérogène puisque colloïdale), et les secondes la phase dispersée. Sous l'action de divers composés, les gouttelettes lipoïdes se gonflent et forment de petites vacuoles (cavula) qui en accusent l'existence.

D'après Fauré-Fremiet la phase lipoïde dispersée de Prowazeck correspond au chondriome de l'Infusoire. Regaud (1908), puis Fauré-Fremiet, Mayer et Schaeffer (1908-1910) ont montré la nature lipoïde des mitochondries de Benda ou « granula » de Altmann dont l'existence est aujourd'hui connue dans presque toutes les cellules vivantes. La colorabilité spécifique de ces éléments n'est possible qu'après l'action de certains fixateurs qui sont toujours des précipitants énergiques des albuminoïdes et des oxydants ; en reprenant les expériences de Lorrain Smith, Mair et Thorpe (1909), on peut démontrer que ces oxydants (CrO^3, OsO^4) transforment les acides gras non saturés en acides hydroxylés très peu solubles dans l'alcool, le xylol et la paraffine, et capables de fixer énergiquement par la suite certaines matières colorantes. Il est possible d'ailleurs que les lipoïdes des mitochondries, qui sont probablement des phosphatides, forment avec des albuminoïdes des combinaisons d'adsorption telles que les lécithalbumines ; il peut suffire d'employer un précipitant énergique pour que les granules albuminoïdes restent « teints » par les matières grasses et conservent une colorabilité spécifique malgré l'usage des solvants des graisses (1).

Les mitochondries peuvent donc être considérées comme une phase lipoïde ou lipoprotéidique dispersée.

Il existe dans presque tous les cytoplasmas d'autres substances capables de se séparer en une phase distincte généralement dispersée.

Telles sont d'abord les glycérides qui se séparent en gouttes huileuses, ou certains éthers à point de fusion élevé, tel que le formiate d'ascaryle de l'œuf d'*Ascaris* (cristalloïdes de Van Beneden).

Ce sont ensuite des matières albuminoïdes qui se condensent en sphérules plus ou moins volumineuses ; les exemples les plus typiques sont fournis par les vitellines des œufs de Poissons ; chez la Truite, la vitelline est un phosphoprotéide qui se sépare à l'état de gel faiblement hydraté sous forme de gouttes non miscibles au reste du cytoplasma. Chez la Carpe, des phosphoprotéides analogues sont intimement liés à une lécithine, et ce complexe se sépare du cytoplasma sous forme de cristalloïdes (Ichtidine de Fremy et Valencienne). Chez les Batraciens, les vitellines forment une phase dispersée constituée par des corpuscules solides en forme de tablettes. Dans ces

(1) On sait que la résistance des mitochondries aux divers fixateurs est très variable suivant l'espèce cellulaire étudiée.

cas si divers, les œufs jeunes montrent à l'ultra-microscope des nuages opalescents ou granuleux qui se séparent du gel cytoplasmique homogène ; il semble que ce soit une floculation des paranucléoprotéides qui précède la formation et la séparation des vitellines proprement dites. Le degré d'hétérogénéité apparent de tous ces cytoplasmas est toujours élevé.

La substance fondamentale, ou le gel cytoplasmique, peut être lui-même hétérogène ; on peut alors désigner les deux phases coexis-

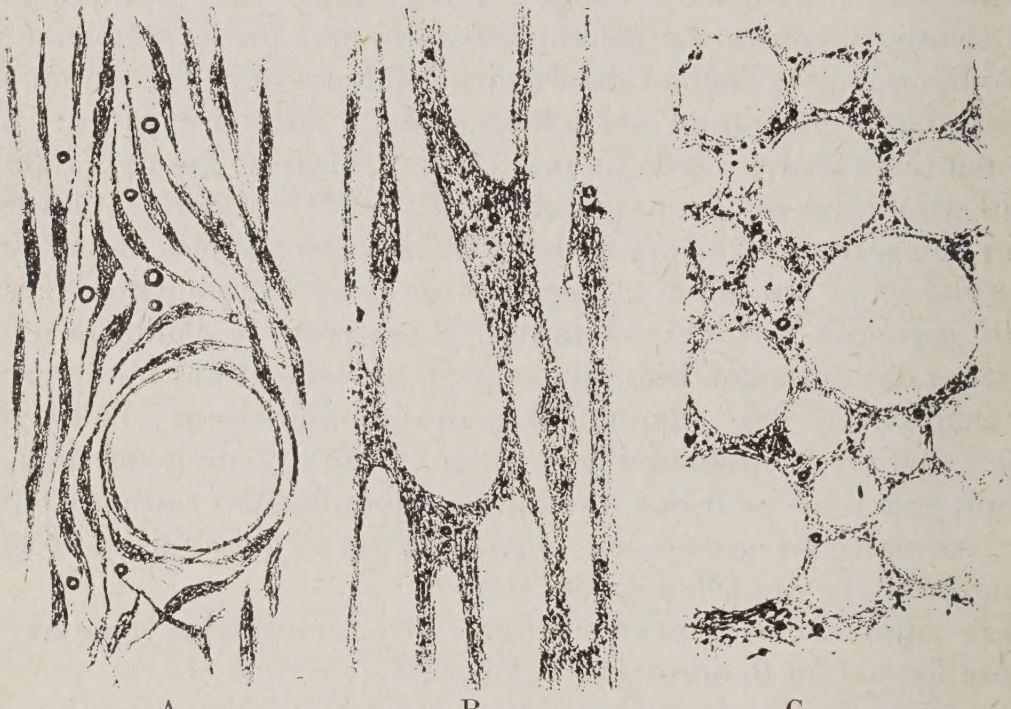


FIG. 6. — Protoplasmas hétérogènes de quelques Infusoires étudiés *in vivo*.

A. Phase visqueuse filaire. — B. Phase visqueuse trabéculaire.
C. Phase visqueuse entourant des vacuoles.

tantes sous les noms de hyaloplasma et de paraplasma, ce dernier étant la partie la plus aqueuse, et correspondant parfois au suc cellulaire des cellules végétales. De telles structures sont bien visibles *in vivo* chez des Infusoires (fig. 6) ou des oocytes.

Un premier type de ces structures hétérogènes est donné par le *Loxodes rostrum*, Infusoire chez lequel on observe de larges travées hyaloplasmiques anastomosées contenant le chondriome et baignées par le paraplasma plus fluide.

Dans un deuxième type, que l'on rencontre chez différents Infusoires, *Stentor*, *Urostyla*, *Condylostoma*, le hyaloplasma forme des filaments visqueux, noduleux, grêles, anastomosés ou disposés en faisceaux, parcourus par des mouvements ondulatoires ; ces filaments renferment quelques granulations, mais le chondriome se trouve en sus-

pension dans la phase plus fluide, ou paraplasma, qui baigne la phase réticulée visqueuse ; celle-ci correspond morphologiquement à certaines descriptions du « mitome » de FLEMMING.

Enfin, dans un troisième type, le cytoplasma se présente comme une émulsion dans laquelle la phase continue visqueuse, constituée par le hyaloplasma, renferme le chondriome, tandis que la phase dispersée est formée par de larges vacuoles de paraplasma fluide. On observe cette structure chez un grand nombre d'Infusoires planktoniques, dans les oocytes de quelques Clyméniens, etc. ; l'étude microchimique montre d'ailleurs que la composition du paraplasma peut être très diverse. Il est très vraisemblable que toutes ces hétérogénéités du gel cytoplasmique sont liées à la présence de substances lipoïdes et à leur séparation partielle ; mais il peut exister des cytoplasmas particulièrement riches en lipoïdes et cependant d'aspect homogène. Citons un Infusoire marin, l'*Epiclintes ambiguus* (FAURÉ-FREMIET 1910) qui difflue totalement dans l'alcool et ne peut être « fixé » qu'avec l'acétone (qui précipite les phosphatides) ou avec des précipitants énergiques tels que l'acide trichloracétique. Citons encore le cytoplasma de l'œuf de *Sabellaria* sur lequel nous reviendrons plus loin. Ces cas extrêmes vérifient l'hypothèse des lipoïdes cytoplasmiques de ALBRECHT et de SCHNEIDER citée plus haut.

5. **Importance de l'hétérogénéité cytoplasmique.** — La complexité chimique du cytoplasma déterminant la séparation d'un nombre de phase supérieur à celui que comporte un simple hydrogel albuminoïde, présente un réel intérêt morphologique, puisque l'hétérogénéité qui en résulte est la première manifestation d'une structure. Au point de vue fonctionnel, elle est également importante, car les phénomènes de diffusion et d'absorption pourront être tout différents dans un gel homogène ou dans un système plus complexe.

Supposons le cas très simple d'un système hétérogène formé de deux phases, tel qu'un liquide renfermant des gouttelettes d'un autre liquide non miscible en toutes proportions. Si nous introduisons dans ce système une troisième substance soluble dans les deux phases coexistantes, elle se répartira inégalement entre celles-ci, suivant sa solubilité dans l'une et dans l'autre. Les recherches de BERTHELOT et de nombreux auteurs ont montré que la notion du coefficient de partage peut s'exprimer sous la forme

$$E = \frac{C_1}{C_2}$$

où C_1 et C_2 expriment la solubilité du troisième corps dans chacun des deux premiers.

Le cas énoncé ci-dessus est le plus simple ; il est possible (cas de l'acide benzoïque dissous dans l'eau ou dans le benzène), que le corps dissous n'aie pas le même poids moléculaire dans les solvants constituant les deux phases ; en négligeant les molécules doubles qui sont dans l'eau et les molécules simples qui restent dans le benzène, la formule de distribution devient :

$$E = \frac{C_1^2}{C_2}$$

Dans le cas des électrolytes enfin, les conditions de partage entre deux phases dont l'une est aqueuse peuvent être encore plus complexes du fait de la solubilité différente des ions et des molécules neutres dans les deux phases coexistantes. Si les molécules non dissociées seules sont solubles dans la phase non aqueuse, un équilibre tendra à s'établir, mais la diminution de la concentration dans la phase aqueuse entraîne une augmentation de la dissociation de l'électrolyte, et les molécules dissociées ne passeront plus dans l'autre phase ; on devra donc introduire dans les équations précédentes le degré de dissociation électrolytique du corps considéré et l'on aura :

$$E = \frac{C_1}{C_2 (1 - \alpha)}$$

Tel peut être le cas d'un acide organique dans une émulsion de benzène et d'eau.

On doit encore tenir compte des variations de tension superficielle au contact de deux phases liquides : on sait qu'un corps soluble qui abaisse cette tension s'accumule à la surface de contact.

L'hétérogénéité du cytoplasma est précisément caractérisée par la coexistence d'une phase aqueuse et de phases dispersées riches en lipoïdes, l'inverse pouvant d'ailleurs se produire ; la diffusion et la répartition de toute substance soluble, présente dans le milieu extérieur ou résultant de l'activité cellulaire, dépendront donc du degré d'hétérogénéité et du coefficient de partage entre les phases suivant les conditions résumées ci-dessus.

Overton et Hans Mayer ont appliqué la notion de coefficient de partage au problème de la perméabilité cellulaire, en supposant l'existence d'une couche lipoïde entourant le corps protoplasmique ; cette hypothèse a été critiquée ou développée par Nathanson (1903) et Ruhland (1908). Prowazeck (1908 à 1915) admet d'ailleurs que la membrane lipoïde n'est pas nécessaire, et ses remarquables expériences effectuées sur les Infusoires montrent qu'une phase lipoïde dispersée dans la masse cytoplasmique peut jouer un rôle important quant à l'absorption et la rétention de certaines substances.

6. **Action de différents facteurs sur l'équilibre du cytoplasma.** — L'hétérogénéité du cytoplasma règle l'absorption et la répartition de diverses substances solubles, mais cette absorption et cette répartition peuvent modifier l'équilibre de diverses phases coexistantes pour les mêmes raisons de solubilité qui expliquent le coefficient de partage.

Supposons une émulsion fine d'acide oléique par exemple dans un mélange hydro-alcoolique ; si l'on ajoute de l'alcool, celui-ci se partage entre les deux phases coexistantes, mais pour une certaine concentration, le trouble disparaîtra et des gouttes d'acide imbibées d'alcool se dissoudront dans le milieu ; si l'on ajoute de l'eau, le trouble reparaîtra et deux phases distinctes se sépareront à nouveau. Mais la solubilité varie avec la température, et pour une émulsion donnée l'équilibre entre les deux phases dépendra à la fois de la concentration du corps ajouté et de la température (1).

L'étude expérimentale de la cellule vivante montre précisément que les structures cytoplasmiques sont modifiées par la température, par l'absorption de certaines substances, et enfin par toutes les conditions qui modifient l'état colloïdal de l'hydrogel constituant la phase continue. Ces modifications sont parfois compatibles avec la vie, mais ne sont pas toujours réversibles.

a) *Température.* — Fauré-Fremiet (1913) a étudié les variations de viscosité du cytoplasma de l'œuf d'*Ascaris* en fonction de la température d'après la vitesse nécessaire pour le transport des granulations d'un pôle à l'autre par centrifugation à vitesse constante ; les résultats suivants ont été obtenus :

Température	Durée du transport en minutes
35	4
30	8
23	20
18	45
8	225

Il apparaît donc que la viscosité du cytoplasma diminue considérablement avec l'élévation de la température ; or jusqu'à 30° C environ, les modifications de la viscosité sont réversibles, tandis que si l'on dépasse 30 à 33° on détermine une variation irréversible, c'est-à-dire que la viscosité du cytoplasma reste très faible si l'on abaisse la température ; cependant l'œuf peut encore subir un développement normal si la température monte jusqu'à 42° ; seule la vitesse de segmentation diminue.

(1) Voir Choucroun, 1923.

On constate donc que la vitesse de segmentation trouve à 32° son optimum, et que, à cette température, il se produit une variation irréversible d'une importante propriété physique du cytoplasma, la viscosité ; propriété qui est liée à l'état des colloïdes cellulaires. Il semblerait ainsi que les constituants du cytoplasma coexistent dans un état de faux équilibre jusqu'à la température de 30-32° qui serait une température critique.

D'autres hétérogénéités cytoplasmiques relèvent aussi, semble-t-il, d'équilibres que l'on pourrait considérer comme métastables ; tel serait le cas du chondriome. Policard (1912), puis Cowdry (1917) ont montré que les mitochondries des cellules pancréatiques et de quelques cellules végétales (racines de Pois) disparaissent à 48-50° C. Policard et Mangenot (1922) ont étudié en détail ce phénomène sur des filaments de *Saprolegna* et des cellules épidermiques de jeunes feuilles d'Iris et de pétales de Tulipes. L'examen était fait *in vivo* sur plaque chauffante, et les cellules étudiées étaient ultérieurement fixées et colorées. Jusqu'à la température de 45° l'aspect des mitochondries ne change pas ; si l'on continue à élever progressivement la température on constate au contraire entre 48° et 50° une modification brusque. Les mitochondries paraissent s'évanouir puis disparaissent totalement ; l'emploi des méthodes spéciales de fixation et de coloration ne permet plus de les mettre en évidence.

La température d'altération n'est pas rigoureusement fixe ; il existe de petites différences suivant l'espèce végétale (pour l'épiderme de la feuille d'Iris il faut atteindre 50°) et pour une même cellule, les mitochondries granuleuses résistent un peu plus que les chondriocontes. D'autre part le cytoplasma de la cellule ne manifeste aucune autre sorte d'altération, et les phénomènes de cavulation (Prowazeck) étudiés par Guilliermond chez les cellules végétales n'ont aucun rapport avec cette transformation brusque.

Policard et Mangenot comparent la température de disparition du chondriome à un point de fusion ; cependant il ne semble pas que cette transformation soit réversible, et il serait peut-être plus exact de considérer cette température comme une température critique, au-dessus de laquelle l'équilibre physique du chondriome avec les autres constituants du cytoplasma cesse d'être possible. L'hétérogénéité cytoplasmique représenterait bien ainsi un état métastable, ou un faux équilibre.

Il est vraisemblable que la température maximum compatible avec la vie cellulaire soit aussi une température critique amenant la destruction de certains équilibres métastables. Les chiffres suivants

résultent des expériences de différents auteurs (1) effectuées sur des Protozoaires.

	Protozoaire étudié	Température maxima
Mendelsohn (1895).....	*Paramaecium*.....	42° — 46° C
Rossbach (1872).....	*Chilodon*.....	50
	Euplotes.....	48 — 52
	Stylonichia.....	52
Davenport et Castle (1896).	*Stentor*.....	44 — 50
Rossbach (1872).....	*Vorticella*.....	52
Schurmayer (1890).....	Vorticelles.....	42
	Carchesium.....	45
Lindner (1896).....	Vorticelles parasites.	40
Schultze (1863).....	*Actinophrys*.....	42
	Milliolides.....	43
Kühne (1864).....	*Aethalium*.....	40
	Amibes.....	40 — 45

Toutes ces températures sont du même ordre que les températures critiques du chondriome des cellules de Métaphytes, et sont notablement inférieures aux températures de coagulation des substances albuminoïdes.

Il serait intéressant de chercher dans des cas différents quelles sont les modifications visibles de l'état du cytoplasma qui peuvent apparaître au voisinage de ces températures critiques, et de chercher si quelques-unes de ces modifications sont réversibles à des températures inférieures. Les structures hétérogènes présentées par quelques Infusoires exposés à de fortes variations de température (ex. : *Fabrea salina*, Fauré-Fremiet 1910) semblent devoir se prêter à de telles expériences.

Il serait intéressant d'étudier d'une manière parallèle l'influence de la pression (2) ; cette question a été fort peu étudiée et la pression osmotique joue un rôle tout différent en modifiant les équilibres cytoplasmiques par les changements de la répartition de l'eau.

b) *Variation de la quantité d'eau.* — En faisant varier la pression osmotique du milieu on peut faire varier la quantité d'eau qui imbibe le cytoplasma ; au delà de certaines limites, cette variation influe sur sa structure en modifiant l'état colloïdal ; une dilution exagérée du cytoplasma cellulaire peut déterminer une brusque précipitation du gel cytoplasmique dans lequel apparaissent des granules animés de mouvements browniens (cytolyse).

---

(1) Voir Przibram, 1913, Bd. IV, p. 76.

(2) Qui est liée à celle de la température dans les transformations réversibles ; c'est ainsi que pour la vaporisation d'un liquide on a la relation exprimée par la formule de Clapeyron : $\frac{dp}{dT} = \frac{Q}{T\,\delta v}$, T étant la température absolue de transformation, Q la chaleur de transformation, dT, dp et δv les variations concomitantes de température, de pression et de volume.

c) *Action des ions* H^+ *et* OH^-. — L'action des acides et des bases modifie l'état colloïdal du gel cytoplasmique ; entre certaines limites ces modifications se traduisent seulement par des variations de viscosité et demeurent réversibles et compatibles avec la vie. Chez certains Infusoires protégés par une cuticule (*Campanella umbellaria*) l'addition d'une trace d'acide acétique dans le milieu est supportée facilement, mais entraîne la séparation dans le cytoplasma d'une phase visqueuse que les réactifs coagulent en boules ou en réseaux. Les travaux de Chambers (1921) montrent les variations de consistance du cytoplasma en fonction des variations du pH extérieur (voir aussi Carrel et Ebeling, Levi, etc., chap. VII).

d) *Action des cathions polyvalents.* — Les sels de Mg, de Ca, de Ba, non toxiques, peuvent dans certains cas agir sur la structure cytoplasmique en déterminant la précipitation de quelques constituants. Si l'on fait agir une solution saturée de $MgCl^2$ sur un Infusoire, *Condylostoma patens* (Fauré-Fremiet 1910) adapté aux fortes concentrations salines (marais salants) on constate un arrêt brusque des mouvements de l'Infusoire ; en même temps l'observation à l'ultra-microscope montre que la structure hétérogène du cytoplasma change ; le hyaloplasma primitivement réticulé forme une masse alvéolaire et une opalescence donnant le bleu Tyndall envahit toute la masse cytoplasmique. Cette transformation est réversible, et, si l'on remplace la solution de $MgCl^2$ par l'eau de mer saturée, les mouvements reprennent tandis que l'opalescence disparaît ; mais la disposition réticulée du hyaloplasma ne se rétablit pas aussitôt. Les structures hétérogènes de la substance fondamentale du cytoplasma semblent d'ailleurs particulièrement instables, dans tous les cas où la phase hyaloplasmique constitue un réseau ou des filaments ; les réactifs précipitants transforment immédiatement cette structure et déterminent la coagulation de masses irrégulières.

e) *Action de substances solubles dans une ou plusieurs phases cytoplasmiques.* — La répartition d'une substance soluble dans une ou plusieurs phases cytoplasmiques s'effectue suivant son coefficient de partage ; mais, comme il a été dit plus haut, la concentration de cette substance dans une phase peut changer les conditions d'équilibre avec les autres phases coexistantes ; il peut se produire dans ce cas, soit une modification du type d'hétérogénéité, le plus souvent réversible, soit une modification profonde et irréversible déterminant la cytolyse (1).

---

(1) Prowazeck (1908) admet dans un système hétérogène cytoplasmique du type hydrogel-lipoïde, une « tension de structure » (Strukturspannung), qui règle la morphologie cellulaire. L'introduction d'un solvant des graisses modifie ou annule cette « tension de structure » et si le cytoplasma ne se désagrège pas, sa forme n'est plus régie que par la tension superficielle.

Le cas le plus simple est celui des colorants vitaux, non toxiques, et capables de pénétrer dans le cytoplasma.

Overton admet que ces colorants doivent être solubles dans les lipoïdes pour traverser la couche cellulaire périphérique, mais on a vu que cette condition n'est pas nécessaire. Considérons le cas plus simple d'une masse cytoplasmique dépourvue de membrane et renfermant une phase dispersée de nature lipoïde : l'hydrogel albuminoïde jouant le rôle de phase continue sera directement au contact de l'eau constituant le milieu extérieur par sa surface externe. Dissolvons dans l'eau un peu de violet dahlia ; si nous avons de l'eau pure et si la masse cytoplasmique est peu chargée en électrolytes (ex : Infusoire d'eau douce), le violet dahlia se dissoudra facilement et diffusera dans le cytoplasma sans donner de coloration élective. Si au contraire nous opérons sur un Infusoire marin ou sur une cellule de Métazoaire immergée dans un sérum physiologique, le violet dahlia se dissoudra difficilement ; il diffusera cependant dans le cytoplasma, mais, étant beaucoup plus soluble dans les substances grasses que dans l'eau salée, il se fixera électivement sur tous les globules lipoïdes constituant la phase protoplasmique dispersée, comme l'exigent les conditions nouvelles de son coefficient de partage. Ce phénomène sera beaucoup plus net à l'égard des mitochondries ou de globules de lécithines qu'à l'égard de gouttes d'huile, car le violet dahlia est peu soluble dans les glycérides. Dans un tel cas, le colorant peut fonctionner encore comme « indicateur de phase ». Il suffit d'ajouter une substance dissolvant le violet dahlia et fortement soluble dans les graisses pour que les gouttelettes d'huile se colorent aussitôt ; mais on constate en même temps que leur volume augmente, ce qui démontre qu'elles absorbent le solvant surajouté. De telles expériences peuvent être facilement effectuées sur la cellule granuleuse du poumon (Fauré-Fremiet 1920) qui renferme des mitochondries et de nombreux globules graisseux, en faisant agir sur cette cellule immergée dans une solution physiologique contenant du violet dahlia des vapeurs d'aldéhydes et de cétones à poids moléculaire élevé ; nous y reviendrons encore en ce qui concerne certains œufs marins (Fauré-Fremiet 1921) tel que l'œuf de *Sabellaria*.

L'action des corps dits « cytolysants » répond à un mécanisme analogue ; ces corps ont été étudiés à des points de vue divers : action sur les Protozoaires et les hématies, et action sur les œufs non fécondés à l'occasion des expériences de parthénogenèse expérimentale.

Les corps cytolysants sont très variés ; ce sont, par exemple : des carbures cycliques ou linéaires, simples ou méthylés (benzène, toluène, etc.) ; le chloroforme, l'éther sulfurique, des éthers sels

(valérianate d'éthyle, etc.), des alcools, des aldéhydes, des cétones, des glucosides, des alcaloïdes. Tous ces corps sont solubles dans les matières grasses et lipoïdes ; il faut ajouter à cette série certains acides organiques, mais à la solubilité dans les matières grasses vient se surajouter l'action spéciale des ions H^+. Les corps cytolysants sont également des corps hémolysants ; un très grand nombre de recherches ont été effectuées sur les lipoïdes des globules rouges, sur l'équilibre des lécithines et de la cholestérine des hématies avec les substances analogues et les électrolytes du plasma (1) et sur l'action des substances hémolysantes.

Loeb et Knaffl-Lenz (1908) admettent avec Wilson la structure émulsoïde du cytoplasma de l'œuf d'Oursin et pensent que les corps cytolysants utilisés comme agents de la parthénogenèse se dissolvent dans les gouttes lipoïdes et changent, à la surface tout au moins, l'équilibre du système (le type d'émulsion pourrait être inversé, la phase lipoïde pouvant devenir continue) ; nous reviendrons plus loin sur ces faits ; rappelons ici les recherches déjà citées de Prowazeck (1908, 1910, etc.) : les sels biliaires, la saponine, et d'autres substances produisent la cavulation du cytoplasma des Infusoires en se dissolvant dans les gouttelettes lipoïdes ; Fauré-Fremiet (1910) a montré qu'il s'agissait bien des mitochondries. Dans toutes les cellules étudiées, Infusoires, cellules de Métazoaires, etc., les solvants des graisses employés à faible concentration gonflent les granulations mitochondriales et les transforment en vésicules qui peuvent être fixées et colorées ultérieurement (fig. 7). Ce phénomène avait déjà été décrit par Degen (1905) sur les Infusoires; par Schiller (1909) sur des œufs de Copépodes; il a été étudié avec une grande précision par Guilliermond (1919) sur des cellules végétales; ce gonflement n'est généralement pas réversible.

La cavulation est un des premiers phénomènes de la cytolyse ; on constate généralement, en ce qui concerne les inclusions huileuses, une diminution progressive du degré de dispersion : les globules confluent les uns avec les autres. Mais l'hydrogel cytoplasmique est lui-même altéré ; s'il est riche en substances lipoïdes (œuf de *Sabellaria*) il peut se gonfler en donnant des boules paramyéliniques, mais on observe fréquemment une profonde modification de la liaison avec l'eau des substances albuminoïdes et leur précipitation en granules.

---

(1) Nous ne pouvons entrer ici dans ces détails ; voir dans Prowazeck (1908), résumé des travaux d'Overton, Hans Mayer, Flexner et Noguchi, Sachs et Kyes, Weidenreich, Erlich Morgenrot, etc. ; voir aussi Landsteiner et Eisler (*Centralbl. f. Bakt.*, 1905) (les lipoïdes des globules rouges fixent l'hémoglobine) ; Koeppe (*Pflüger's Archiv*, 1903) ; Pascucci (*Hofmeisters Beiträge*, 1905, Bd. VI); Mayer et Schaeffer (constantes cellulaires, indice lipoïdique des globules rouges et hémolyse) ; Brinkmann et von Dam (*Biochem. Zeitschr.*, 1920, Bd. CVIII), etc.

L'importance des substances grasses intra-cytoplasmiques à l'égard des phénomènes de cytolyse a été encore démontrée par Prowazeck dans une expérience élégante ; des Infusoires nourris avec du jaune d'œuf se chargent de gouttes huileuses qu'ils ne semblent pas digérer. A partir de ce moment, leur sensibilité aux solvants des graisses, à la saponine, aux alcaloïdes, etc., est considérablement modifiée et

Fig. 7. — Spermatocytes de *Pyrrhocoris* observés à l'état frais et montrant :

En A, les mitochondries normales ; puis en B, les mêmes éléments gonflés sous l'action du sérum chloroformé ; et en C, la phase ultime de ce gonflement, correspondant à la « cavulation » de Degen et de Prowazeck.

souvent dans le sens d'une diminution, les gouttes d'huile absorbant d'abord l'excès de substance qui a pénétré dans le cytoplasma.

7. **Le noyau et l'état colloïdal.** — Nous n'insisterons pas ici sur les différentes structures nucléaires ; d'une manière générale les substances nucléaires sont séparées du cytoplasma, en dehors des périodes de division, par une membrane ; la réalité de cette membrane nucléaire a été discutée ; mais les expériences de mérotomie pratiquées sur des Infusoires permettent d'isoler le macronucléus et de constater la présence d'une membrane très fine mais résistante, entourant une masse très fluide ; la même observation peut être répétée sur des oocytes de Grenouilles dont on peut isoler la vésicule germinative ; si l'on perce mécaniquement la membrane, le suc nucléaire s'écoule aussitôt. Enfin les expériences de microdissection (Chambers) ne laissent aucun doute sur la réalité de son existence. L'examen ultramicroscopique du suc nucléaire (toujours considéré dans un noyau au repos) montre tous les intermédiaires entre une opalescence à peine visible et un granulum assez dense, sans mouvements browniens. Les nucléoles, qui constituent une phase visqueuse distincte, apparaissent comme des taches obscures à bord réfringent (Fauré-Fremiet 1909, Agazzotti 1910).

Della Valle (1912) considère le noyau au repos comme une goutte

liquide non miscible au cytoplasma et séparée de celui-ci par une « membrane de précipitation » (1) ; cette goutte possède un indice de réfraction supérieur à celui du cytoplasma (2) et une consistance qui paraît être à la limite entre l'état solide et l'état liquide. Agazzotti compare cette consistance à celle d'un « émulsoïde plus ou moins filant ».

Avec Fischer (1899), Albrecht (1902), Tellyesniczki (1902 et 1905), Della Valle admet que le suc nucléaire est typiquement homogène et constitue un hydrogel, sans posséder cependant l'élasticité typique des gelées solides ; c'est également l'opinion de Noel et Mangenot (1922) qui recommandent le formol salé comme fixateur nucléaire, parce que ce réactif ne crée aucune structure et conserve au noyau l'aspect homogène caractéristique que l'on peut observer à l'état frais.

L'état colloïdal du suc nucléaire peut varier *in vivo* dans certaines limites ; chez les Infusoires d'eau douce, le macronucléus paraît rempli de granulins immobiles et brillants sous l'éclairage latéral ; sous l'action d'une solution de soude $\frac{N}{1000}$, ce même macronucléus pâlit, les grains s'estompent, et l'on n'observe plus qu'une forte opalescence qui disparaît totalement elle-même pour une concentration plus forte $\left(\frac{N}{500}\right)$ de soude ; cette transformation peut facilement s'effectuer *in vivo* de manière réversible. Inversement, l'acidification du milieu amène la coagulation du suc nucléaire et la réunion des granulins en petits amas irréguliers ; Herwerden (1924) semble avoir observé des faits analogues sur les noyaux des cellules épidermiques de Têtards.

Le macronucléus des Infusoires marins, comme celui des cellules de Métazoaires, est généralement obscur ou légèrement opalescent et donne le bleu Tyndall, avec quelques granulins très fins (Agazzotti 1910 et 1920, noyaux des érythrocytes de *Spelerpes* ; Fauré Fremiet 1909, Infusoires des marais salants, noyaux des glandes salivaires d'Insectes, vésicules germinatives diverses) ; cette différence tient sans doute à la solubilité des nucléines en présence de NaCl, et aussi, dans le cas des microrganismes marins, à l'alcalinité de l'eau de mer dont le pH est toujours voisin de 8 ; dans tous ces cas, on constate qu'une augmentation légère de l'alcalinité du milieu fait disparaître toute trace d'opalescence, et que, inversement, la

(1) Telle qu'il peut s'en former à la surface de contact de deux colloïdes de signe opposé.

(2) L'indice de réfraction d'un colloïde est lié à sa concentration (voir p. 153).

neutralisation de l'eau de mer par exemple détermine un louche puis une opalescence qui se résout bientôt en un granulum.

Le gonflement du noyau par absorption d'eau dans un milieu hypotonique détermine une dilution de ses colloïdes ; les granulins persistent mais sont dès lors agités de vifs mouvements browniens.

8. **Structures nucléaires hétérogènes ; action de divers facteurs.** — Le suc nucléaire, à l'état d'hydrogel ou d'hydrosol, renferme toujours quelques globules réfringents et colorables, les nucléoles,

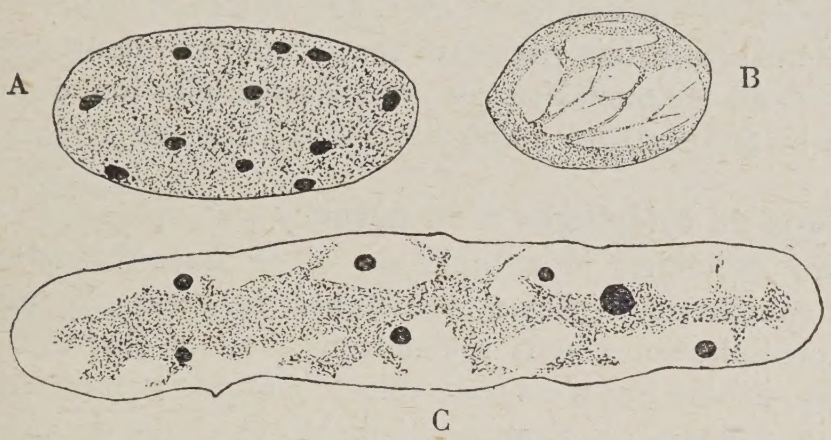


Fig. 8. — Structures nucléaires granuleuses (macronucléus d'Infusoires d'eau douce), aspect négatif de l'image ultra-microscopique.

A. Aspect totalement granuleux avec des nucléoles réfringents.
B et C. Structures plus hétérogènes, normales chez certaines espèces.

qui constituent une phase distincte ; mais dans certains cas, chez quelques Infusoires, ou dans les cellules de quelques Isopodes par exemple, le suc nucléaire peut être hétérogène et se présenter sous l'aspect de deux phases coexistantes, la plus visqueuse figurant un réseau. Comme dans le cas des structures cytoplasmiques du même ordre, il suffit de modifications très légères de l'hydratation de ces noyaux, de la température ou de la réaction du milieu, pour produire une modification profonde et généralement irréversible.

On peut obtenir expérimentalement l'apparition d'une phase nouvelle dans certains noyaux (cellules des glandes salivaires des Hydrocorises, Fauré-Fremiet 1910) ; sous l'action de la soude à très faible concentration on voit apparaître des masses irrégulières, visqueuses, vacuolisées, fortement colorables, ressemblant à des nucléoles chromatiques ; il est impossible que cette modification, totalement irréversible par ailleurs, résulte d'une transformation chimique ; bien que l'étude des structures nucléaires soit entièrement à reprendre (1), on peut rapprocher ce fait de l'existence très fréquente

(1) Voir les travaux de Nemec.

de nucléoles complexes dans divers éléments cellulaires d'animaux marins, vivant dans un milieu nettement alcalin.

L'action de la température sur la structure du noyau a été peu étudiée ; elle est cependant probable d'après les expériences de Mitrophanow (1903) sur des Paramœcies ; en soumettant ces Infusoires à une température de 38° pendant 15 minutes, puis en les refroidissant 1 heure à 2°5, on constate une séparation de quelques-uns des constituants du macronucléus qui montre une couche périphérique très colorable, une zone centrale granuleuse et vacuolisée et des sortes de pseudo-chromosomes en forme de tubes ou de bâtonnets ; l'action de la température se fait peut-être sentir indirectement sur les diverses phases du suc nucléaire, car nous verrons plus loin que l'abaissement de la température augmente l'imbibition du noyau (1).

9. **Rapports du cytoplasma et du noyau.** — Au point de vue de la structure cellulaire, le cytoplasma et le noyau peuvent être considérés comme deux phases coexistantes séparées par une membrane de précipitation ; nous reviendrons dans le chapitre suivant sur cette hypothèse qui n'est utilisable qu'en toute première approximation, étant donné la complexité d'état physique de chacun des deux constituants de la cellule.

Rappelons cependant que certaines structures, qui apparaissent dans le cytoplasma de nombre de cellules au voisinage du noyau, indiquent des rapports évidents (échanges ou transformations chimiques) à la surface de séparation de ces deux « phases » ; ce sont les Parasomes, Plasmosomes ou Nebenkern (2) et les Chromidies (3).

---

(1) Voir relation nucléoplasmique, page 72.

(2) Gaule et Nussbaum ont décrit sous le nom de «Nebenkern», dans diverses cellules glandulaires, des corps intra-cytoplasmiques d'origine nucléaire possible ; Ogata (1883) les a décrits (plasmosomes) dans le pancréas du Triton ; Leydig (1883) dans les glandes salivaires de *Nepa* ; Platner (1886) dans les cellules pancréatiques des Anoures et des Reptiles ; ce sont dans ce cas des formations chromophiles en forme de calottes appliquées sur la surface du noyau. Ces formations ont été étudiées ensuite par Eberth et Müller (1892) ; Henneguy (1896) décrit un corps feuilleté dans les cellules fraîches de l'hépatopancréas de l'Ecrevisse. Laguesse (1899-1900) pense que le Nebenkern des cellules pancréatiques de Salamandre et de Naja sont constituées par une « métanucléine » qui passe du noyau dans le cytoplasme. Mouret (1895), Vigier (1901) admettent la nature nucléolaire ou l'origine nucléolaire des plasmosomes, Launoy (1903) les considère comme un signe de l'activité nucléaire. Pacaut et Vigier (1906) décrivent dans les glandes salivaires de l'Escargot des calottes chromophiles périnucléaires se transformant en corps lamelleux comparables à l'ergastoplasma. Citons encore les travaux ou les observations de Regaud et Policard (1901) (cellules du corps jaune de Hérisson), de Laguesse (1905), Fauré-Fremiet (1913) (diverses cellules de l'*Ascaris*), Zotta (1920), Dragoiu et Fauré-Fremiet (1922) (cellules hépatiques de Têtards soumis au régime thyroïdien), etc., etc. Cet ensemble de recherches n'a pas apporté de données bien précises sur des corps particuliers et très répandus dont la nature serait intéressante à connaître pour préciser les rapports physico-chimiques du cytoplasma et du noyau.

(3) On sait que l'on désigne sous ce nom d'une part les formations chromatiques correspondant à un noyau diffus, ou d'autre part des formations chromatiques qui apparaissent dans le cytoplasma au voisinage du noyau, et qui ont été décrites par un grand nombre d'auteurs au cours de l'oogenèse chez différentes espèces animales. Il semble que ces «chromidies» comme

10. **Réaction du protoplasma cellulaire.** — Greeley, le premier, puis Mayer et Schaeffer ont montré que le cytoplasma vivant peut être considéré comme un colloïde négatif en milieu légèrement alcalin.

Degen (1905) a tenté de déterminer l'alcalinité du cytoplasma de quelques cellules en cherchant quelle était la proportion de NaOH à $\frac{1}{100}$ qu'il faut ajouter au milieu pour augmenter l'alcalinité cytoplasmique et déterminer un phénomène visible tel que la vacuolisation ; il considère la concentration réalisée comme immédiatement supérieure à celle du cytoplasma cellulaire. Degen a obtenu les chiffres suivants :

Espèce étudiée	Concentration de NaOH
Aspergillus	1/500e à 1/1000e
Aethalium	1/2000e
Glaucoma	1/5000e à 1/10000e
Bac. mycoides	1/50000e à 1/100000e

soit pour un Infusoire tel que le *Glaucoma*, une concentration en NaOH de $\frac{N}{2000}$ à $\frac{N}{4000}$ environ.

On peut utiliser une autre méthode et se servir de certains colorants vitaux tels que les bleus de Nil et de crésyl brillant, le rouge neutre, etc., comme d'indicateurs (1). Ces colorants virent en solution aqueuse pour les valeurs suivantes du pH :

pH	Rouge neutre (R. A. L.)	Chlorhydrate de bleu de Nil Grübler	Sulfate de bleu de Nil Grübler	Bleu de crésyl brillant Grübler
7,0	rouge	bleu	bleu	bleu
7,8	orangé	»	»	»
	virage net	»	»	»
8,9	jaune	»	»	»
10,14	»	lilacé	lilacé	»
11,07	»	rosé	violacé	»
11,5	»	»	rosé	»
12,1	»	rose franc	rose franc	jaune orangé

certaines catégories d' « ergastoplasma », représentant soit des mitochondries, soit des paranucléoprotéides constituant le premier stade de la séparation des « vitellines » dans le cytoplasma de l'œuf. Les chromidies appartenant à la première catégorie ont été observées chez les Bactéries par Shaudinn (1902 et 1903), Swellengrebel (1906-7-8-9), Dobell (1911), Guilliermond (1907-1908), etc.; chez les Cyanophycées par Guilliermond (1906), chez l'*Actinosphærium* par Hertwig (1898), et chez les Amibes testacées par Hertwig (1902), Schaudinn (1903); chez des Infusoires par Gonder (1905), Caullery et Mesnil (1903), etc. (Voir la revue publiée en 1905 par Mesnil, l'article de R. Goldschmidt (1903), etc.

(1) On sait (voir Fauré-Fremiet, 1911) que ces colorants sont des sels toujours fortement dissociés en solution aqueuse, et que leur base, rose dans le cas des bleus, jaune dans le cas du rouge neutre, sont beaucoup plus solubles dans les graisses que dans l'eau : cette propriété a été utilisée pour la détection des inclusions cellulaires lipoïdes (Lorrain Smith, Mair et

En combinant les indications données par ce tableau, on peut estimer l'alcalinité de divers cytoplasmas, perméables à ces colorants ; d'une manière générale, sauf dans le cas de certains oocytes riches en paranucléoprotéides, le pH cytoplasmique est voisin de, ou supérieur à 7 (1), mais on ne doit pas oublier que ces déterminations sont sujettes à de nombreuses causes d'erreurs.

La réaction du noyau ne semble pas avoir été déterminée ; le noyau est probablement moins alcalin que le cytoplasma ; mais il n'est pas prouvé qu'il soit nettement acide *in vivo* bien que le fait soit généralement admis à cause de son affinité pour les couleurs basiques ; on a vu plus haut qu'il suffit en effet d'une très légère acidification pour modifier sa structure.

11. **Conclusions.** — Dans l'exposé rapide qui précède, nous avons fait abstraction de toutes les structures cellulaires complexes : cils vibratiles, cuticules, myofibrilles, fibrilles de soutien et autres différenciations ; et nous avons cherché quelles sont, dans les cas simples, les conditions physiques qui peuvent agir sur l'équilibre des principaux constituants du cytoplasma et du noyau.

Nous sommes en droit de nous représenter la cellule comme un système hétérogène dont les différentes phases coexistantes, *considérées pendant un temps très court ou nul*, sont dans un état d'équilibre souvent instable, comme le montre l'existence de températures critiques déterminant des transformations irréversibles.

Le degré d'hétérogénéité de ce système est assez grand, mais nous ne le connaissons que par les apparences optiques du cytoplasma et du noyau ; le nombre des constituants indépendants connus est sans doute très inférieur à la réalité, et ni la variance ni le nombre des phases ne peuvent être déterminés par le calcul. Une difficulté plus sérieuse à l'application de la règle des phases a été prévue par Zwaardemaker et développée par Wurmser (1923) ; elle est relative à l'importance certaine, mais indéterminée, des forces capillaires dans un système hétérogène dont les dimensions sont comprises entre 10^{-5} et 10^{-2} centimètres.

Nous avons vu que, dans un tel système, la diffusion et la répartition des substances solubles se font conformément à leur coefficient de partage ; mais celui-ci, dans le cas des électrolytes, peut déter-

---

Thorpe ; Hollande, etc. ; voir aussi Fauré-Fremiet et Du Vivier de Streel, 1920). Il apparaît donc qu'une coloration métachromatique donnée par ces colorants utilisés *in vivo* ne peut être considérée comme une indication d'alcalinité (par le déplacement de la base) *que dans le cas où cette cette coloration apparaît dans un milieu aqueux.*

(1) Fischer a montré (voir page 296) que le pH optimum pour la culture des cellules est au voisinage immédiat de la neutralité. On verra d'ailleurs qu'il existe à ce point de vue une certaine latitude, toujours plus étendue du côté alcalin que du côté acide.

miner une inégale répartition des ions, c'est-à-dire des charges électriques ; et nous verrons dans les chapitres suivants que ces phénomènes ont leur importance si l'on considère les changements d'état de la cellule. Enfin, négligeant volontairement le point de vue chimique, nous n'avons pas abordé la question longuement discutée par Moore et Roaf et d'autres auteurs, en ce qui concerne ses applications à la cellule vivante, des liaisons qui peuvent s'établir entre les micelles d'un colloïde de signe électrique déterminé et des ions mono et polyvalents.

Malgré ces lacunes, nous retiendrons des faits précédents : 1° que tous les éléments du système hétérogène cellulaire sont liés les uns aux autres par des conditions physico-chimiques ; 2° que les variations de ces conditions peuvent changer l'équilibre des phases coexistantes ; telles sont les variations de température, qui déterminent des changements dans la distribution des phases, dans la viscosité et aussi dans l'imbibition du système ; les variations de pression osmotique qui, en faisant varier la teneur en eau, modifient l'état des colloïdes ; la réaction du milieu et l'action des différents ions qui modifient également l'état des colloïdes ; enfin l'action des différents corps solubles qui se partagent inégalement entre les phases coexistantes et modifient leurs conditions d'équilibre.

Nous devons examiner maintenant les résultats essentiels de l'activité chimique de la cellule, c'est-à-dire sa croissance, et les variations que cette activité impose à l'état du système.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE PREMIER

Agazzotti, 1910. Ricerche ultramicroscopiche sui globuli rossi di *Spelerpes fuscus (Zetschr. f. Allg. Physiol.*, Bd. II, p. 249).

Albrecht, 1903. Ueber die Bedeutung myelogener Substanz im Zelleben (*Verh. Deutsch. Path. Ges. Kassel.*).

Albrecht, 1906. Sur la structure du protoplasma (XV^{e} Congrès internat. Med. Lisbonne. *C. R. Anatomie*, p. 266).

Bottazzi, 1911. Das Cytoplasma und die Körpersäfte (*Handbuch der Vergleichende Physiologie de* Winterstein).

Caullery et Mesnil, 1903. Sur la structure nucléaire d'un Infusoire (*Fœttingeria actiniarum*) (*C. R. Soc. Biol.*, t. LV, p. 806).

Chambers, 1921. The effect of experimentally induced changes in consistency on protoplasmic movement (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, t. XIX, p. 87, 88).

Chambers, 1921. Studies on the organisation of the Starfish egg (*Journ. of Gen. Phys.*, vol. IV, n° 1, p. 41, 44).

Chambers, 1921. Apparatus for micro-manipulation and micro-injection. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, t. XIX, p. 85, 87).

CHAMBERS, 1922. A micromanipulator for the isolation on bacteria and the dissection of cells (*Journ. of Bacteriology*, vol. VIII, n° 1).

CHAMBERS, 1922. New apparatus and methods for the dissection and injection of living cells (*Anat. Record.*, vol. XXIV, n° 1, p. 1, 20).

CHODAT, 1911. *Principes de Botanique* (2e édition, Paris, Baillère, et Genève, Georg et Cie).

CHOUCROUN, 1923. Electrisation d'adsorption. Colloïdes et membranes (Thèse 1923, Paris, Presses Universitaires et *Journ. de chimie-physique*).

COWDRY, 1917. A comparison of mitochondries in plant and animal Cells (*Biol. Bull.*, t. XXXIII, p. 220).

DAVENPORT and CASTLE, 1895. On the acclimatization of organisms to high temperatures (*Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. II, p. 227).

DEGEN, 1905. Untersuchungen über die contractile Vacuole und die Wabenstructur des Protoplasmas (*Botan. Zeitschr.*, Bd. LVIII).

DELLA VALLE, 1912. La morphologia della cromatina dal punto di vista fisico (*Archivio Zoologico*, vol. VI, p. 37).

DRAGOIU et FAURÉ-FREMIET, 1921. Etude histologique des phénomènes provoqués chez le Têtard de *Rana temporaria* par l'alimentation thyroïdienne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 437).

DUCLAUX, 1922. *Les colloïdes* (Paris, Gauthier-Villars).

DUBREUIL L., 1920. Détermination du nombre des constituants indépendants d'un système de corps (*C. R. Ac. Sciences.*, t. CLXXI, p. 720).

DUJARDIN, 1835. Recherches sur les organismes inférieurs (*Ann. Sc. Nat. Zool.*, 2e série, t. IV).

DUJARDIN, 1841. *Histoire naturelle des Zoophytes Infusoires* (Paris).

EBERTH und MÜLLER, 1892. Untersuchungen über das Pankreas (*Zeitschr. f. wiss. Zoologie*, Bd. LIII).

FAURÉ-FREMIET, 1905. Sur la structure du protoplasma chez les Protozoaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LIX, p. 697).

FAURÉ-FREMIET, 1908. Sur l'étude ultra-microscopique de quelques Protozoaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIV, p. 582).

FAURÉ-FREMIET, 1909. Constitution du macronucléus des Infusoires ciliés (*C. R. Ac. Sc., 8 mars*).

FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER, 1909. Sur la constitution et le rôle des mitochondries (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVI, p. 921).

FAURÉ-FREMIET, 1909. Sur les réactions de quelques mitochondries (*C. R. Ac. Sc.*, juillet).

FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER, 1909. Sur les réactions chimiques des mitochondries (*C. R. Soc. Soc. Biol.*, t. LXVII, p. 769).

FAURÉ-FREMIET, 1910. Appareil nucléaire, chromidies, mitochondries (*Arch. für Protistenkunde*, Bd. 21).

FAURÉ-FREMIET, 1910, Etude physiologique sur la structure de noyaux de type granuleux (*C. R. Ac. Sc.*, mai).

FAURÉ-FREMIET, 1910. Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles (*Arch. Anat. Microsc.*, t. XI, p. 458).

FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER, 1910. Sur la microchimie des corps gras, application à l'étude des mitochondries (*Arch. Anat. Microsc.*, t. XII, p. 19).

FAURÉ-FREMIET, MAYER et SCHAEFFER, 1910. Sur la microchimie des corps gras. *Anat. Anz.* Bd XXXVI, p. 596.

FAURÉ-FREMIET, 1910. Contribution à l'étude des glandes labiales des Hydrocorises (*Ann. Sc. Nat.*, t. XII).

FAURÉ-FREMIET, 1910. Mitochondries et liposomes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 537).

FAURÉ-FREMIET, 1912. Etudes cytologiques sur quelques Infusoires des marais salants du Croisic. (*Arch. Anat. Microsc.*, t. XIII, fasc. 3).

FAURÉ-FREMIET, 1913. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Anat. Microsc.*, t. XV, p. 435).

FAURÉ-FREMIET, 1915. Composition et morphologie des lipoïdes ovulaires (*Journ. de Physiol. et Path.*, t. XVI, p. 808).

FAURÉ-FREMIET et DU VIVIER DE STREEL, 1920. Etude sur les abcès provoqués par injections de substances non septiques. Méthode de diagnostic (*Ann. Hyg. Méd. légale*, juin).

FAURÉ-FREMIET, J. DRAGOIU et DU VIVIER DE STREEL, 1920. Sur une réaction microchimique de la cellule pulmonaire (*Bull. Soc. Chimie Biol.*, t. II, n° 3).

FAURÉ-FREMIET, 1920. Action de différents composés chimiques sur la cellule pulmonaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1344).

FAURÉ-FREMIET, 1921. La maturation et l'activation expérimentale de l'œuf chez *Sabellaria* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 810).

FAURÉ-FREMIET, 1921. Constitution de l'œuf de *Sabellaria alveolata L.* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 1023).

FAURÉ-FREMIET, 1921. Discontinuité dans l'évolution morphologique du chondriome de l'œuf de *Sabellaria alveolata L.* (*C. R. Soc. Biol.*, novembre, t. LXXXV, p. 986).

FISCHER, 1899. *Fixierung, Farbung und Bau des Protoplasmas*, Jena.

GAIDUKOW, 1907. Die ultramikroskopie an Zellen (*Münch. Med. Wochenschr.*, Bd. LIV, p. 1504).

GAIDUKOW, 1910. *Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in der Biologie und in der Medizin*, Jena.

GAULE, 1881. Kern, Nebenkerne und Cytozoen (*Centralblatt f. d. med. Wiss.*).

GOLDSCHMIDT R., 1904. Die Chromidien der Protozoen (*Arch. f. Protistenkunde* Bd. V, p. 126).

GONDER, 1905. Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden Schmarotzenden Infusorien (*Arch. für Protistenkunde*, Bd. V, p. 240, 262).

GREELEY, 1904. Experiment on the physical structure of the Protoplasma of *Paramaecium* (*Biol. Bull.*, vol. VIII, p. 332).

GUIEYSSE, 1907. Etude des organes digestifs chez les Crustacés (*Arch. Anat. Microsc.*, t. IX).

GUILLIERMOND, 1907. Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées (*Rev. Gén. Bot.*, t. XVIII, p. 392).

GUILLIERMOND, 1907. La cytologie des Bactéries (*Bull. Inst. Pasteur*, t. IV, p. 1).

GUILLIERMOND, 1908. Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés (*Arch. f. Protistenkunde*, Bd. XII, p. 9).

GUILLIERMOND, 1919. Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides (*Rev. Génér. de Bot.*, t. XXXI, p. 372).

HENNEGUY, 1896. *Leçons sur la cellule, Morphologie et Reproduction* (Paris, Georges Carré).

HERLANT (M.), 1920. Le cycle de la vie cellulaire chez l'œuf activé (*Arch. Biol.*, t. XXX).

HERTWIG (R.), 1899. Ueber Encystierung und Kernvermehrung bei *Arcella vulgaris* (*Festschrift f. G. Kupffer. Jena*, p. 367).

HERTWIG (R.), 1902. Die Protozoen und die Zelltheorie (*Arch. für Protist.*, Bd. I, p. 1).

HERWERDEN, 1924. Sur la possibilité de provoquer une gélification réversible dans l'organisme vivant (*Bull. d'Histologie appliquée, etc.*, t. I, p. 401).

HÖBER, 1906. *Physicalische Chemie der Zellen und der Gewebe* (Leipzig).

KNAFFL-LENZ, 1908. Ueber die Beziehungen zwischen Lipoïdverflüssigung und Zytolyse (*Pflügers Arch.*, Bd. CXXIII, p. 279).

KÖLSCH, 1902. Untersuchungen über die Zerfliessungserscheinungen der Ciliaten Infusorien (*Zool. Jahr. Anat.*, Bd. XVI).

KÜHNE, 1864. *Untersuchungen über das Protoplasma und die Kontraktilität* (Leipzig, Engelmann).

LAGUESSE, 1898. Corpuscules paranucléaires (parasomes, filaments basaux et zymogène) (*Cinquantenaire Soc. Biol.*).

LAGUESSE, 1905-1906. Le Pancréas (*Rev. Génér. Hist. de Renaut et Regaud*, Lyon, fasc. 4 et 5).

LAPICQUE, 1922. Sur les corpuscules qui montrent l'agitation protoplasmique chez les Spirogyres (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 510).

LAUNOY, 1903. Les phénomènes de pyrénolyse dans les cellules de la glande hépatopancréatique de l'*Eupagurus Bernardus* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXVI, p. 109).

LAUNOY, 1903. Sur quelques phénomènes nucléaires de la sécrétion (*C. R. Ac. Sc.* t. CXXXVI, p. 1479).

LAUNOY, 1903. Contribution à l'étude des phénomènes nucléaires de la sécrétion (cellules à venin, cellules à enzyme) (*Thèse de la Fac. des Sc. de Paris*).

LAUNOY, 1908. Contribution à l'étude histophysiologique de l'autolyse aseptique du foie (*Ann. Inst. Pasteur*, vol. XXIII, p. 1 et 979).

LEBLOND (E.), 1919. Le passage de l'état de gel à l'état de sol dans le cytoplasma vivant (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, p. 1150).

LEBLOND (E.), 1919. L'état de sol dans ses rapports avec l'activité fonctionnelle du protoplasma (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, p. 1220).

LE CHATELIER (H.), 1920. La loi des phases (*C. R. Ac. Sciences*, t. CLXXI, p. 1033).

LEMELAND, 1921. Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et lipoïdes du sang (*Bull. Soc. Chimie Biol.*, t. III, nº 4).

LEMELAND, 1922. Recherches chimiques et physiologiques sur le dosage des lipoïdes. II. Etude critique de la méthode de Kumagawa-Suto (*Bull. Soc. Chimie Biol.*, t. IV, nº 6).

LEVI (G.), 1917-1918. Nuovi studi su cellule coltivate *in vitro* (*Archivio Italiano di Anatomia e di Embriologia*, vol. XVI, fasc. 4).

LEYDIG, 1883. *Untersuchungen zur Anatomie und Histologie der Thiere* (Bonn).

LIEBREICHT, 1863. Ueber die Entstehung der Myelinformen (*Virchow's Arch. f. Pathol.*, Bd. XXXII, p. 387).

LINDNER, 1896. Studien über die Biologie parasitischer Vorticellen (*Biol. Zentralblatt*, t. XVI).

LOEB, 1906. *Dynamique des phénomènes de la vie* (trad. DAUDIN et SCHAEFFER). (Paris, Alcan).

LOEB (J.), 1911. *La fécondation chimique* (*Parthénogenèse artificielle*) (traduit par ANNA DRZEWINA, Paris, *Mercure de France*).

LOEB (J.), 1924. *Les Protéines* (trad. par MOUTON, Paris, Alcan).

LORRAIN SMITH, MAIR and THORPE, 1909. An investigation of the principles underlying Weigeirt's method of staining medullated nerve, etc. (*Journ. of Path. and Bact.*, vol. XIII).

MAGGI, 1876. La mielina nella diffluenza degli Infusori (*Rendic. Inst. Lomb. Sc. Lett.*, vol. IX).

MANN, 1906. Définition, structure et composition du protoplasma (15e Congrès Intern. de Med. Lisbonne, *C. R.*).

MARINESCO, 1912. Essai de biocytoneurologie au moyen de l'ultra-microscope (*Nouv. Iconogr. de la Salpétrière*, nº 3).

MAYER et SCHAEFFER, 1908. Sur la structure des gels. Applications à l'étude de la constitution du protoplasma animal et des liquides de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, avril, p. 681).

MAYER et SCHAEFFER, 1913. La composition des tissus en acides gras non volatils et en cholestérine et l'existence possible d'une constance lipocytique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVII, p. 487).

MAYER et SCHAEFFER, 1913. Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Existence possible d'une constance lipocytique. 1er mémoire : introduction et technique (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XV, mai, p. 510, 524).

MAYER et SCHAEFFER, 1913. *Id.* 2e mémoire : Résultats expérimentaux (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XV, mai, p. 334, 348).

MAYER et SCHAEFFER, 1913. Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. 3e mémoire : Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoïdes (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XV, juillet, p. 773, 788).

MAYER et SCHAEFFER, 1913. Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. 4e mémoire : Teneur en lipoïdes des globules et du sérum sanguin (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XV, septembre, p. 984, 998).

MAYER et SCHAEFFER, 1914. Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. 1er mémoire : Discussion théorique. L'eau constante cellulaire (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XVI, janvier, p. 1, 16).

MAYER et SCHAEFFER, 1914. *Id.* 2e mémoire : Rapport entre la teneur des cellules en lipoïdes et leur teneur en eau (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XVI, janvier, p. 23, 38).

MAYER et SCHAEFFER, 1914. Recherches sur les variations des équilibres cellulaires. Variations de la teneur des tissus en lipoïdes et en eau au cours de l'inanition absolue (*Journ. Physiol. et Path.*, t. XVI, mars, p. 203, 211).

MAYER et SCHAEFFER, 1914. Constance de la concentration des organismes entiers en lipoïdes phosphorés. Concentration en lipoïdes au cours de la croissance. Application à la biométrique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLIX, p. 102).

MENDELSSOHN, 1895. Ueber den Thermotropismus einzelliger Organismen (*Pflüger's Arch.*, t. IX, p. 1).

MESNIL, 1905. Chromidies et questions connexes (*Bull. Inst. Pasteur*, vol. III, nº 8, p. 1, 10).

MEYER (HANS), 1899. Welche Eigenschaft der Anästhetika bedingt ihre narkotische Wirkung (*Arch. f. Exp. Pathol. u. Pharm.*, Bd. XLII).

MEYER (HANS), 1901. Zur Theorie der Alkoholnarkoze. III. Mitteil. Der Einfluss wechselnder Temperatur auf Wirkungsstärke und Teilungskoeffizient der Narkotica (*Arch. f. Exp. Pathol. u. Pharm.*, Bd. XLVI).

MITROPHANOW, 1903. Nouvelles recherches sur l'appareil nucléaire des Paramécies. (*Arch. de zool. exp. et gen.*, *4e série*, t. I, p. 411).

NATHANSON, 1903. Ueber die Regulation der Aufnahme anorganischer Salze durch die Knollen von Dahlia (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, Bd. XXXIX).

NATHANSON, 1903. Ueber Regulationserscheinungen in Stoffaustausch (*Jahrb. f. Wiss. Bot.*, Bd. XXXVIII, p. 284).

NEMEC, 1910. *Das Problem der Befruchtungsvorgänge*, Berlin.

NEUBAUER, 1866. Ueber Myelinformen (*Arch. Path. Anat. Physiol.*, Bd. XXXVI).

NICOLAIDES und MELISSINOS, 1890. Untersuchungen über einige intra- und extranucleare Gebilde im Pankreas der Säugethiere auf ihre Beziehung zu der Sekretion (*Arch. f. Anat. u. Entwick.*).

NOEL et MANGENOT, 1922. Le formol fixateur nucléaire (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 1130).

NUSSBAUM, 1882. Ueber den Bau und die Thätigkeit der Drüsen (*Arch. f. mikrosk. Anatomie*, t. XXI).

OGATA, 1883. Die Veränderungen der Pancreaszellen bei der Secretion (*Arch. f. Physiol.*).

OVERTON, 1900. Studien über die Aufnahme der Anilinfarben durch die lebende Zelle (*Jahrbuch f. wissens. Bot.*, Bd. XXXIV).

OVERTON, 1901. *Studien über die Narkose* (Jena).

PACAUT et VIGIER, 1906. Les glandes salivaires de l'Escargot. Anatomie, Physio-

logie. Contribution à l'histo-physiologie glandulaire (*Arch. Anat. Microsc.*, t. VIII).

Platner, 1886. Ueber die Befruchtung bei *Arion empiricorum* (*Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XVII).

Policard, 1912. Sensibilité des chondriosomes aux élévations de température. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 228).

Policard et Mangenot, 1922. Action de la température sur le chondriome cellulaire. Un critérium physique des formations mitochondriales (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIV, p. 645).

Prowazek, 1908. Das Lecithin und seine biologische Bedeutung (*Biol. Centralb.*, Bd. XXVIII p. 382).

Prowazek, 1908. Studien über Biologie der Zellen (*Biol. Zentr.*, Bd. XXVIII).

Prowazek, 1909. Studien zur Biologie der Zellen (*Biol. Zentralb.*, t. XXIX, p. 782).

Prowazek, 1910. Einführung in die Physiol. der einzelligen Protozoen (Teuber editor, Leipzig und Berlin).

Prowazek, 1915. Zur Morphologie und Biologie von *Colpidium colpoda* (*Arch. f. Protistenkunde*, Bd. XXXVI, p. 72, 14 fig.).

Przibram, 1913. *Experimental Zoologie.* IV. *Vitalität* (Leipzig und Wien, Franz Deuticke).

Raveau (C.), 1920. De la variance et des moyens d'en présumer la valeur sans l'aide d'aucune formule (*C. R. Ac. Sciences*, t. CLXX, p. 1385).

Raveau (C.), 1920. A propos de la détermination du nombre des constituants indépendants. La règle de M. Dubreuil (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLXXI, p. 913).

Regaud, 1908. Caractères histologiques généraux des enclaves lipoïdes ne réduisant pas l'acide osmique (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXV).

Regaud, 1908. Sur les formations mitochondriales de diverses espèces cellulaires (*C. R. Assoc. des Anat.*, 10e réunion, Marseille).

Regaud, 1908. Sur les mitochondries de l'épithélium séminal (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXV).

Regaud et Policard, 1901. Phénomènes sécrétoires, formations ergastoplasmiques et participation du noyau à la sécrétion dans les cellules du corps jaune chez le Hérisson (*C. R. Soc. de Biol.*, 1901).

Rossbach, 1872. Die rhythmischen Bewegungen der einfachsten Organismen und ihr Verhalten gegen physikalische Agentien und Arzneimittel (*Verhandlungen physik mediz. Gesellsch. Würzburg*, N. F. II, p. 179).

Ruhland, 1908. Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut (*Jahrb. für wissensch. Botanik*, Bd. XLVI).

Russo, 1910. De la signification des aspects que présentent à l'ultra-microscope les cellules vivantes ou mortes (*Arch. Int. de Phys.*, t. X, p. 135).

Russo, 1910. Recherches ultra-microscopiques sur le protoplasma (*Journ. Physiol.*).

Russo, 1910. Recherches ultra-microspcopiques touchant l'action de divers agents extérieurs sur les conditions de la vie du protoplasma, etc. (*Arch. Int. de Phys.*, t. X, p. 90).

Russo, 1911. Etude sur la constitution ultra-microscopique des cellules animales (*Thèse de Lyon*).

Schaudinn, 1903. Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden (*Arb. aus dem K. Gesundheitsamte*, vol. XIX, p. 547).

Schiller, 1909. Ueber Künstliche Erzeugung «primitiver» Kernteilungsformen bei Cyclops (*Arch. f. Entwicklungsmeck*, Bd. XXVII, p. 560-609).

Schneider, 1906. Protoplasmastruktur und Bewegung bei Protozoen und Pflanzenzellen (*Arbeit. a. d. Zool. Inst. Wien*, Bd. 26).

Schultze, 1863. *Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen* (Leipzig, Engelmann).

Schurmayer, 1891. Ueber den Einfluss äusserer Agentien auf einzell. Wesen. (*Jenais. Zeitschr. für Nat.*, Bd. XXIV, p. 402).

Schwartz, 1881. Die morphologische und chemische Zusammensetzung der Protoplasma (*Beiträge zur Biol. der Pflanzen*, Bd. V).

Spek (J.), 1920. Essai über Physikalisch Chemische Erklärungen der Veränderungen der Kernsubstanz (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XLVI).

Swellengrebel, 1906. Zur Kenntniss der Zytologie von *Bacillus maximus buccalis* (Miller) (*Zentralblatt f. Bakt. Abt.* 2., Bd. XVI, p. 617).

Swellengrebel, 1907. Zur Kenntniss der Zytologie der Bakterien. I. *Bacterium binucleatum* (*Centralblatt f. Bakt. Abt.* 2., Bd. XIX, p. 193).

Swellengrebel, 1909. Untersuchungen über die Zytologie einiger Padenbakterien (*Arch. Hyg.*, Bd. LXX, p. 380).

Urbain, 1924. *L'Energétique des réactions chimiques* (Doin édit., Paris).

Verne (J.), 1923. *Le protoplasma cellulaire, système colloïdal* (Doin édit., Paris).

Vigier, 1901. Sur l'origine des parasomes ou pyrénosomes dans les cellules de la glande digestive de l'Ecrevisse (*C. R. Ac. Sc.*, avril).

Vigier, 1901. Les pyrénosomes (parasomes) dans les cellules de la glande digestive de l'Ecrevisse (*C. R. Assoc. Anat.*, 3e congrès de Lyon, Nancy).

White, 1908. The so-called fatty acids degeneration of the adrenals (*Journ. of Path. and Bact.*, t. XIII).

White, 1908. Cholesterol fatty acids combinations (*Proceed of the Physiol. Soc. in Journ. of Physiol.*, t. XXXVIII, p. 6).

Wilson, 1899. On protoplasmic structure in the Eggs of Echinoderms and some other animals (*Journ. of Morph.*, vol. XV, suppl.).

Wurmser (R.), 1923. L'énergétique et la biochimie (*Bull. Soc. Chimie biologique*, t. V, p. 487, 490).

Zotta (G.), 1915. Les parasomes des cellules folliculeuses des tubes ovariens des Hémiptères hydrochores (*C. R. Soc. de Biol.*, réunion de Bucarest, t. LXXVIII, p. 469).

Zwaardemaker, 1905. Die physiologische wahrnehmbaren Energiewanderungen (*Ergeb. der Physiol.*, Bd. IV).

Zwaardemaker, 1906. Die im ruhenden Körper vorgehenden Energiewanderungen (*Erg., der Physiol.*, Bd. V).

Zwaardemaker, 1908. Die Energetik der autochthon periodischen Lebenserscheinungen (*Ergeb. der Physiol.*, Bd. VII).

Zwaardemaker, 1912. Die Energetik der finitiven Prozesse (*Erg. der Physiol.*, Bd. XII).

Zwaardemaker und Dekhuyzen, 1909. Ruhende tierische Zelle und Gewebe ein verwickeltes System koexistierender Phasen (*Int. Kongr. Budapest. Rapport. Sektion. Physiol.*).

CHAPITRE II

L'accroissement cellulaire

1. **Grandeur cellulaire.** — Si l'on étudie une cellule vivante pendant un temps assez long, on voit en général, et quel que soit son mode de nutrition, que sa masse s'accroît, puis que la cellule se divise. Spencer, dans ses *Principes de Biologie*, a cherché une raison théorique pouvant servir d'explication générale au fait que l'accroissement d'une masse organisée n'est pas indéfini, et Henneguy, dans ses *Leçons sur la cellule*, applique le raisonnement de Spencer au cas de la division cellulaire.

Supposons une masse sphérique, dont le volume initial soit égal à 1000 ; la surface correspondante sera 483,6. Si cette masse s'accroît, on trouve, lorsque son volume atteint la valeur 2000, une surface égale à 766,03 ; la surface n'a donc augmenté que de 1,58 tandis que le volume a doublé exactement. D'une manière approchée, la surface s'accroît comme le carré, et le volume comme le cube. Si donc les échanges ou les transformations qui permettent la croissance se font à travers la surface et sont proportionnels à celle-ci, la variation progressive du rapport de la surface au volume pourra entraîner la réalisation de conditions incompatibles avec le fonctionnement normal. Ce raisonnement général s'applique non seulement à la totalité de la masse cellulaire, mais encore à toutes les phases intra-cytoplasmiques dont la dispersion n'augmenterait pas au cours de la croissance.

Il est évident que la division de la masse organisée en deux masses « filles » de volume égal au volume initial, rétablit le rapport primitif de la surface au volume et restreint les variations de ce rapport entre des limites assez étroites.

Herlitzka (1898) exprime une idée analogue à celle de Spencer en disant : « le métabolisme de la cellule et du noyau est intimement lié à la grandeur et aux rapports géométriques, c'est-à-dire à la forme de l'élément » (1).

Nous sommes donc amenés à envisager le problème de la grandeur

(1) Voir aussi Enriques (1912).

cellulaire comme intimement lié à celui de la croissance. On sait aujourd'hui que la grandeur des diverses cellules connues est extrêmement variable : les Bactéries sont souvent de l'ordre de grandeur du μ (10^{-4} centimètre) et les virus filtrants, s'ils ont une structure cellulaire, sont plus petits encore. Chez les Infusoires, nous trouvons toutes les dimensions, depuis moins de 10 μ jusqu'à plus de 2000 μ ; les cellules de certains Nématodes dépassent 2 millimètres ; le jaune de l'œuf des Oiseaux peut atteindre des dimensions énormes.

Chez les Métazoaires, on sait que les Échinodermes et les Cœlentérés possèdent de petites cellules, tandis que les Batraciens montrent de grands éléments ; chez les Mammifères la taille moyenne des cellules est intermédiaire, mais, chez tous ces animaux, les différentes espèces cellulaires montrent des dimensions moyennes variées.

Considérons maintenant un Infusoire ou une cellule conjonctive en culture ; en première approximation, et pour une température constante donnée, l'accroissement de la masse cellulaire se poursuit régulièrement, et l'on observe une division chaque fois que cette masse a doublé. On devra donc conclure qu'*il existe une limite supérieure de la taille cellulaire*, pour une espèce donnée et dans des conditions déterminées. Nous devons étudier en détail les conditions qui fixent cette limite, et la généralité de cette conclusion ; mais celle-ci pose un autre problème : Existe-t-il une limite inférieure de la taille cellulaire pour une espèce donnée ? Les expériences de mérotomie permettent de répondre à cette question que l'on peut encore exprimer sous la forme suivante : existe-t-il une limite de divisibilité pour une masse organisée ?

Les expériences de Verworn (1888), de Balbiani (1892), etc., ont montré qu'un Protozoaire pouvait être sectionné et que le fragment contenant l'appareil nucléaire continuait à vivre et régénérait un individu entier.

Lillie (1897) a cherché quelle est la quantité minima de matière organisée, cytoplasma + noyau, capable de manifester les caractères spécifiques de son espèce cellulaire. Les expériences faites sur *Stentor coeruleus* et *polymorphus* montrent que la plus petite masse nucléée capable de régénération mesure 80 μ de diamètre ; le rapport du volume de ce fragment, ou mérozoïte, au volume normal de l'Infusoire est de 1/64^{e}.

Morgan (1903) a trouvé, également pour un *Stentor*, une limite beaucoup moins faible, soit 1/8^{e} seulement.

Sokoloff (1913) répète ces expériences sur *Spirostomum* et *Dileptus* ; un fragment nucléé n'est pas capable de régénération si son diamètre est inférieur à 25 μ ; cette limite correspond à 1/100^{e} environ du volume normal de l'Infusoire.

La vitesse de régénération dépend, dans une certaine mesure, de la dimension des mérozoïtes : elle n'excède pas deux heures pour des fractions égales au 1/2 ou au 1/4 de l'individu ; atteint 2 h. 40 environ pour des fragments de 1/6e à 1/10e (1000 à 500 μ de diamètre) et demande 3 à 4 heures pour des fragments plus petits ; mais d'autre part, la limite de divisibilité et la vitesse de régénération varient avec la région du corps à laquelle sont empruntés les mérozoïtes ; les fragments nucléés provenant des extrémités se régénèrent moins vite que ceux provenant du centre, et la dimension minimum compatible avec une régénération normale atteint 80 μ pour les premiers et 40 μ pour les seconds. Il existe donc, à côté de la question de limite de divisibilité, une question d'organisation protoplasmique ; celle-ci a été examinée par Johnson (1893), Calkins (1911), Stevens (1903), etc...

Des expériences analogues ont été faites sur des œufs d'Échinodermes par Driesch (1893) et Boveri (1895) ; des blastomères nucléés correspondant à des fractions de 1/20e à 1/50e du volume de l'œuf peuvent encore donner une blastula. Zoja (1895) avec des œufs de Méduses (*Clytia* et *Laodice*) montre que jusqu'à 1/16e seulement de la masse primitive, les blastomères isolés peuvent se segmenter normalement.

Il est bien évident, par ailleurs, que la limite inférieure de divisibilité d'une cellule dépend en grande partie des propriétés physiques du cytoplasma ; certains cytoplasmas diffluants au contact de l'eau ne peuvent même pas se prêter à de telles recherches (1).

Sokoloff (1923), après avoir insisté sur ce fait, estime, provisoirement tout au moins, que « la masse minimale d'organisation peut être réduite à une grandeur infiniment petite ».

Pratiquement, il n'en est généralement pas ainsi, parce que le traumatisme opératoire modifie l'état des constituants cellulaires et trouble leurs relations quantitatives.

2. **La loi de Driesch. Discussion.** — La limite supérieure de la taille cellulaire est-elle constante pour une espèce donnée ?

Un premier ensemble de documents est fourni par les Infusoires sur lesquels des mesures précises ont pu être effectuées.

Popoff (1908 et 1909) mesure des individus de *Frontonia leucas* provenant d'une même culture, et fixés dans des conditions identiques 10 minutes après la division ; la taille moyenne des individus est sensiblement constante et l'écart maximum atteint environ 20 %.

(1) Balbiani (1892) a montré que les Paramæcies subissent très difficilement la mérotomie, et que les mérozoïtes qui réussissent à vivre donnent des régénérations tout à fait anormales. Ces faits ont été revus par Jennings.

JENNINGS et HARGITT (1908 et 1910) ont tracé, d'après des mesures de longueur, le polygone de variabilité de diverses races de Paramæcies ; il obtient dans chaque cas des courbes en cloches (fig. 9) et la taille correspondant au maximum de fréquence est tout à fait caractéristique pour chaque race ; on peut donc admettre que la taille moyenne demeure constante pour chacune de celles-ci, les individus étant mesurés comme dans les expériences de POPOFF 10 minutes après la division. L'écart maximum autour de la moyenne atteint

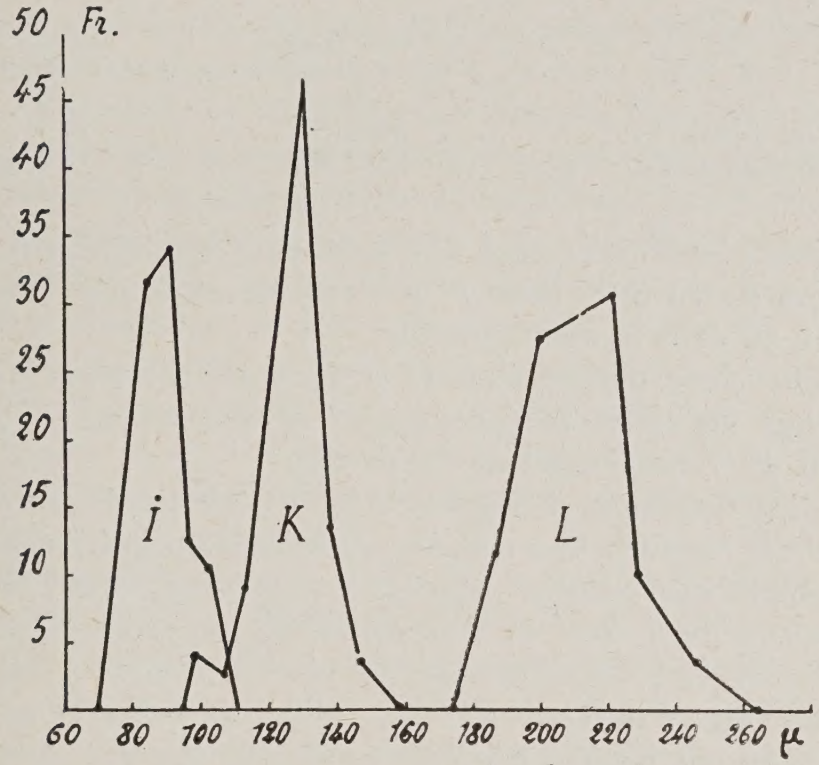


FIG. 9. — Polygones de variabilité de la longueur des individus chez trois races de *Paramaecium caudatum*, I, K et L, d'après JENNINGS et HARGITT, 1910.

suivant les races des valeurs différentes comprises entre 20 % et 40 %.

Un deuxième ensemble de documents, beaucoup plus complexe à la vérité, est donné par les cellules des Métazoaires. De très nombreuses mesures montrent que dans une même espèce animale les dimensions moyennes des cellules sont constantes pour chaque tissu. SACHS et AMELUNG sont arrivés au même résultat chez les Végétaux. Ces constatations, qui résument de nombreuses statistiques, sont la base de la loi de DRIESCH, ou loi de *constance de la grandeur cellulaire.*

La démonstration de DRIESCH est la suivante : les cellules embryonnaires de deux Oursins : *Sphaerechinus granularis* et *Echinus microtuberculatus* sont sensiblement de même taille, tandis que le volume

de l'œuf de *Sphaerechinus* est à peu près le double de celui de l'œuf d'*Echinus*, la proportion étant exactement celle de 173 à 100 ; corrélativement, le nombre des cellules est environ deux fois plus grand chez *Sphaerechinus* que chez *Echinus* aux stades homologues.

Si l'on sépare les deux premiers blastomères au premier stade de la segmentation, on obtient des larves qui ont la moitié de leur grandeur normale, et le nombre des cellules est réduit de moitié. Si par exemple on compte dans la blastula les cellules du mésenchyme primaire, on obtient les chiffres suivants :

	Larve entière (nombre des cellules)	Demi-larve (nombre des cellules)
Echinus.....	50 à 60	25 à 30
Sphaerechinus	25 à 30	13 à 15

La même observation peut être faite pour les cellules intestinales au nombre de 75 à 90 dans la gastrula normale du *Sphaerechinus* et de 35 à 50 dans la demi-gastrula.

Les dimensions des cellules de segmentation restent donc constantes pour un stade morphologique déterminé, et ne dépendent nullement du volume total de l'embryon.

Cette démonstration, si élégante, a été répétée sur les larves d'*Asterias glacialis* (nombre des cellules intestinales primitives), de *Phallusia* (nombre des cellules chordales). Herlitzka (1897) l'a vérifiée sur les larves de *Triton*, et Wilson (1900) sur celles d'*Amphioxus*.

Il résulte de la loi de Driesch que si deux individus appartenant à la même espèce diffèrent par leur taille, ils diffèrent aussi par le nombre total des cellules qui les composent. Boveri a examiné les dimensions des cellules de l'épithélium buccal d'un géant de 2 m. 38 de haut ; le volume moyen de ces cellules était rigoureusement normal (1).

Si l'on considère les cellules d'animaux appartenant à des espèces différentes, le problème ne se pose plus de la même manière ; Levi (1906), après avoir mesuré, sur des coupes effectuées suivant une même technique histologique, la surface moyenne des cellules de différents tissus chez une vingtaine d'espèces différentes de Mammifères, cherche quel rapport peut relier la taille cellulaire (représentée par la surface de section) aux dimensions totales du corps. Il distingue

(1) Le cas des cellules végétales peut être différent (voir Dufrenoy, 1922) ; chez les animaux, l'observation de Boveri est confirmée par celles de Reusch (1923) effectuées sur des Poules ; lorsque les variations de taille ne sont pas héréditaires, elles semblent uniquement en rapport avec une variation du nombre des éléments cellulaires. Quand au contraire la taille grande ou petite devient un caractère de race transmissible à la descendance, on pourrait noter une différence spécifique dans la taille des cellules.

deux groupes de cellules. Le premier comporte les cellules épithéliales et glandulaires, dont la grandeur moyenne varie d'une espèce à l'autre d'une manière restreinte si l'on fait la moyenne des maximums et des minimums correspondant aux variations fonctionnelles, et surtout d'une manière absolument indépendante de la grandeur du corps. C'est ainsi que les cellules de cette catégorie sont plus grandes chez le Chat domestique et le *Lemur mangos* que chez le Porc, le Cobaye et le Rat ; et plus grandes chez ces trois derniers que chez le Chien.

De même, chez les Batraciens, elles sont plus grandes chez le Géotriton que chez la Salamandre et plus grandes chez cette dernière que chez le Crapaud. Les érythrocytes rentrent dans cette catégorie.

Le second groupe comprend les cellules nerveuses ganglionnaires, les fibres nerveuses et aussi les fibres du cristallin, dont les dimensions varient en général comme la grandeur du corps. Pierret et Cavazzani admettent que la dimension des cellules nerveuses est proportionnelle à la longueur de leur cylindre-axe, tandis que Cajal et Athias (1905, discussion et bibliographie) admettent qu'elle est proportionnelle au diamètre de celui-ci. Levi montre que, de toute manière, le volume de ces cellules est en rapport avec l'étendue du territoire qui leur est soumis ; elles sont donc, dans une certaine mesure, proportionnées à la grandeur du corps ; c'est la conclusion des recherches de Hardesty (voir d'Arcy Thompson 1917) qui, figurant les grandeurs relatives des cellules ganglionnaires de quelques Mammifères, les classe dans l'ordre suivant, qui est évidemment le même que celui de la taille de ces animaux : Éléphant, Cheval, Homme, Chien, Chat, Lapin, Rat, Souris. Cependant ce classement par ordre de taille n'implique pas une proportionnalité exacte entre la taille des cellules ganglionnaires et celle du corps ; d'Arcy Thompson calcule que l'Éléphant doit posséder au moins 15.000 fois plus de cellules nerveuses que la Souris.

Enriquez (1907-1908) était arrivé à des résultats analogues après de nombreuses mesures effectuées sur des Tuniciers, des Mollusques, etc. Enfin les cellules musculaires se comporteraient aussi de la même façon au cours des hypertrophies fonctionnelles (Morpurgo 1898).

Rabl (1900) admet qu'il existe un rapport entre la dimension des fibres du cristallin et la grandeur de celui-ci ; Levi trouve que la surface moyenne de ces fibres atteint 43 μ, 5 chez un Chien de 23 kilogrammes et 31 μ, 6 chez un Chien de 3 kg., 75. Toutes ces constatations viennent à l'appui de la classification établie par Bizzozero, qui désigne sous le nom de *cellules permanentes* les éléments cellulaires très différenciés, lesquels perdent leur pouvoir de division et s'accroissent en même temps que l'organisme auquel ils appartiennent ;

en dehors de ces éléments, il distingue les *cellules stables*, ou cellules des appareils squelettiques et glandulaires, et les *cellules labiles*, qui se multiplient et se renouvellent de façon continue ; telles sont les cellules des organes génitaux et des épithéliums tégumentaires (peau et muqueuses). Cette distinction repose sur des faits certains et Levi insiste sur sa valeur ; *mais elle démontre que la loi de* Driesch *n'a pas une valeur absolue*, que la loi de constance de la taille cellulaire, vérifiée en première approximation sur un matériel convenable, n'est pas susceptible d'une généralisation complète.

L'étude des variations de la grandeur cellulaire au cours du développement vient encore à l'appui de cette assertion.

Illing (1905) étudie les dimensions maximums, minimums et moyennes des cellules hépatiques chez différents Mammifères jeunes et adultes ; il constate tout d'abord, comme Levi, que la dimension moyenne des cellules n'est en rapport ni avec la taille de l'animal, ni avec les dimensions du lobule hépatique ; mais il observe ensuite, et c'est là un fait nouveau, que la taille de ces cellules, qui appartiennent cependant à la catégorie des éléments «stables» de Bizzozero, s'accroît notablement entre l'état jeune et l'état adulte ; c'est ce que montrent les chiffres suivants :

	Volumes cellulaires moyens	
	Jeune	Adulte
Cheval	4.064 μ^3	9.743 μ^3
Bœuf	3.479	6.882
Mouton	3.261	4.624
Chèvre	3.430	5.203
Porc	1.671	5.131
Chien	7.420	9.524 (1)
Chat	2.854	4.918

Ces chiffres montrent que la taille cellulaire moyenne peut être doublée entre l'état jeune et l'état adulte ; cette constatation est importante à retenir dans le cas d'un organe tel que le foie où les figures de division cellulaire ne se rencontrent que très exceptionnellement ; malheureusement, Illing ne tient pas compte, dans ces moyennes, des différences possibles d'état physiologique entre les organes qu'il compare.

Heiberg (1907) serre le problème de plus près, mais il ne mesure que le diamètre nucléaire moyen des cellules hépatiques et pancréatiques de la Souris blanche. Cet auteur examine l'action de divers fixateurs ; il compare surtout, après fixation à l'alcool, le volume

(1) Les mesures d'Illing ne correspondent pas toujours à celles de Levi surtout en ce qui concerne le Chien.

nucléaire chez des Souris soumises à des régimes différents, et constate que ceux-ci ont peu d'influence ; cependant, sous l'action du jeûne ou du régime carné, le volume nucléaire varie légèrement.

En ce qui concerne les variations volumétriques au cours de la croissance, HEIBERG trouve les valeurs suivantes :

	Diamètre nucléaire	
	Cellule hépatique	Cellule pancréatique
Souris nouveau-née.....	5,6 μ	4,9 μ
Souris de 5 jours.....	5,7	4,8
Souris demi-grandeur.....	6,1	4,8
Souris adulte.....	8,0	5,8

L'augmentation du volume nucléaire est donc évidente, surtout pour la cellule hépatique, et correspond certainement, avec plus de sécurité dans les mesures, à l'accroissement du volume cellulaire trouvé par ILLING.

BEREZOWSKI (1910) mesure chez des Souris, à différents âges, la hauteur et la largeur moyenne maximum et minimum des cellules épithéliales prismatiques de l'intestin au voisinage du pylore ; les volumes calculés d'après ces mesures donnent les valeurs suivantes : (1)

Age	10 jours	1 mois	2 mois	3 mois	4 mois	5 mois
Portée A.....	343	453	525	506	564	512
Portée B.....	329	410	525	469	398	»

L'accroissement est moins sensible que pour la cellule hépatique, mais il semble quand même bien établi, entre dix jours et deux mois tout au moins ; à partir de cet âge, la taille demeure constante ou même semble diminuer légèrement.

Les mesures de PLENK (1911) sur les cellules épithéliales de l'intestin grêle du Rat blanc donnent un même résultat :

	Nouveau-né	1 semaine	1 mois	Adulte
Volume cellulaire...	756 μ^3	756 μ^3	918 μ^3	972 μ^3

PLENK a étendu ses recherches aux Batraciens urodèles avec la Salamandre ; il trouve dans ce cas des variations importantes de la

(1) Les chiffres expriment des grandeurs relatives, l'auteur n'ayant pas transcrit ses mesures micrométriques en grandeurs absolues.

taille cellulaire, mais celles-ci peuvent s'effectuer dans des sens différents : dans une première période, qui suit le développement embryonnaire mais précède la naissance, le volume cellulaire diminue ; pendant la seconde, qui correspond à l'accroissement post-natal, le volume augmente. L'exemple numérique suivant est relatif aux cellules épithéliales de l'œsophage et de l'estomac.

	VOLUMES CELLULAIRES	
Age	Epith. de l'œsophage	Epith. de l'estomac.
— 1 mois.....	1.620 μ^3	5.788 μ^3
Naissance.....	1.458	1.242
+2 mois.....	3.796	2.788
+12 mois.....	6.328	8.268

Bien que les mesures de volume cellulaire présentent de sérieuses difficultés (les mesures effectuées sur des coupes enlèvent beaucoup de leur valeur aux déterminations faites en grandeurs absolues), il est certain, d'après cette série de documents, que la loi de Driesch ne s'applique pas pendant la croissance des Mammifères et surtout des Batraciens, c'est-à-dire que la fixité de la taille limite des diverses espèces cellulaires ne s'établit que progressivement ; il en résulte que l'accroissement du corps d'un Métazoaire *peut* s'effectuer non seulement par la multiplication de ses cellules, mais encore, dans une certaine mesure, par l'accroissement individuel de chacune d'elles ; ce phénomène ne serait même pas l'apanage exclusif des éléments très différenciés tels que les cellules nerveuses ganglionnaires, et pourrait s'étendre jusqu'aux cellules stables au sens de Bizzozero. Cet accroissement cellulaire est d'ailleurs beaucoup plus marqué dans certains groupes zoologiques que dans d'autres.

On sait que, chez les Nématodes, la segmentation de l'œuf est rigoureusement déterminée et que l'embryon de chaque espèce est caractérisé par un nombre fixe de cellules. Après l'éclosion, certaines cellules, celles par exemple de l'épithélium intestinal ou de l'épithélium des tubes génitaux, se multiplient activement puis s'accroissent et se multiplient à la fois ; d'autres cellules, au contraire, ne font plus que s'accroître et se différencier sans subir de division, en sorte que leur nombre reste fixe.

Martini (1905, 1907 et 1908) montre que la segmentation se termine, pour différentes espèces, à un stade comportant 480 à 500 cellules. A partir de ce stade, les cellules musculaires ne se divisent plus et peuvent s'accroître dans la proportion de 1 à 200 en dimensions linéaires. Chez *Oxyuris curvula* leur longueur passe pendant la croissance de l'individu de 30 μ à 6 millimètres ; leur nombre étant

fixe (1) les dimensions de ces éléments suivent exactement l'augmentation des dimensions du corps ; chez les mâles de l'*Oxyuris curvula* les cellules musculaires sont cinq fois plus petites que chez la femelle, et douze fois plus grosses que chez l'*Oxyuris vermicularis*.

Les cellules nerveuses sont également en nombre fixe, tout au moins chez les *Ascaris lumbricoides* et *megalocephala* ; d'après les recherches de Goldschmidt (1908) elles s'accroissent comme les cellules musculaires, proportionnellement à la grandeur du corps.

Fauré-Fremiet (1913) montre que les cellules pariétales de l'utérus et du canal déférent de l'*Ascaris megalocephala* cessent de se multiplier à un certain stade de la croissance larvaire et s'accroissent ensuite en se différenciant ; les cellules utérines augmentent 18 fois en longueur et près de 5000 fois en volume.

La croissance cellulaire individuelle sans phénomènes de division est connue chez les Rotifères pour les cellules de l'intestin moyen (Hirschfelder). Chez les Appendiculaires, et particulièrement chez *Oikopleura longicauda*, pour les cellules nerveuses et chordales. Chez l'*Amphioxus* pour les cellules géantes de la moelle. Chez les Hirudinées pour les cellules nerveuses (Apathy). Chez les Insectes, pour les cellules des glandes salivaires et tout particulièrement des glandes séricigènes. Chez les Isopodes, pour les cellules intestinales (Guieysse-Pellissier), etc.

Il est essentiel de remarquer que les variations du volume cellulaire moyen au cours de la croissance d'un organisme (2) ne se font pas toujours dans le sens d'une augmentation. Les observations de Plenk sur la diminution de volume, avant la naissance, de quelques cellules déjà spécialisées de la larve de Salamandre, s'expliquent d'ailleurs, comme Herlitzka (1898) l'a montré chez le Triton, par la disparition progressive des dernières inclusions vitellines. Un autre cas signalé par Plenk est celui de certains organes à croissance très active, et chez lesquels la division cellulaire est plus rapide que l'accroissement propre ; tel serait l'épithélium intestinal de la Couleuvre, ou encore le foie et le pancréas du Rat *sitôt après* la naissance ; cette légère diminution du volume cellulaire se retrouve dans les mesures de Heiberg relatives au pancréas de la Souris après la naissance.

Les recherches ci-dessus résumées permettent de considérer comme acquis les trois points suivants :

1° Chez les Métazoaires, nombre de cellules, généralement diffé-

(1) Il existe 65 cellules musculaires chez les *Oxyuris* et 87 chez les jeunes Sclérostomes ; il se produit encore quelques divisions pendant la croissance larvaire chez cette dernière espèce, car les cellules musculaires de l'embryon sont également au nombre de 65.

(2) Nous examinerons plus loin les phénomènes spéciaux de la segmentation.

renciées hautement (cellules nerveuses et cellules musculaires par exemple), s'accroissent sans se diviser ; ce sont les éléments « permanents » de Bizzozero, dont le nombre est exactement ou approximativement fixe (1). Ces éléments permanents n'ont pas une grandeur définie caractéristique de l'espèce cellulaire ou de l'espèce animale ; ils n'ont pas de taille limite à proprement parler et n'obéissent pas à la loi de Driesch.

Au contraire, les cellules « stables » et les cellules « labiles » de Bizzozero ont, chez l'*animal adulte*, une taille moyenne relativement fixe ; elles présentent schématiquement une limite supérieure de taille constante et vérifient la loi de Driesch ; *mais cette taille limite* n'est atteinte qu'à la fin de la période de croissance des organes, et jusqu'à ce moment la taille cellulaire peut varier et s'accroître, dans des limites restreintes cependant (2) ;

2° En ce qui concerne l'accroissement d'un organe, la croissance propre de chaque cellule et la division cellulaire peuvent être considérées comme deux phénomènes distincts ; ce qui signifie encore une fois que la loi de Driesch ne s'applique pas nécessairement au cours du développement, un même accroissement de la masse organisée pouvant se traduire soit par la multiplication d'éléments cellulaires dont la taille limite demeure constante ou presque constante, soit par l'accroissement individuel de chaque cellule, celles-ci ne se divisant pas ou rarement (3) ;

3° L'hypothèse de Spencer ou de Herlitzka définissant en quelque sorte la *nécessité géométrique* d'une limite à l'accroissement cellulaire assurée par la bipartition, n'est valable qu'à un point de vue théorique très général ; il est donc nécessaire de définir, si possible, les conditions qui fixent la limite supérieure de la taille cellulaire lorsque celle-ci existe.

3. **La relation nucléoplasmique.** — Il ne semble pas exister de documentation ou d'expérience permettant de relier la limite supérieure de la taille cellulaire à quelque propriété physique du cytoplasma, ou même à la composition chimique globale de la cellule.

Mayer et Schaeffer ont étudié les « constantes cellulaires »

---

(1) Chez les Mammifères, le nombre de ces éléments peut augmenter au cours de la croissance grâce à l'existence de zones ou de points germinatifs dont les cellules demeurent peu différenciées. Tel n'est pas le cas chez les Nématodes.

(2) Le cas des cellules épidermiques est assez particulier ; à partir de la couche basale ou germinative, les cellules épineuses du corps de Malpighi s'accroissent manifestement jusque dans la zone où elles se chargent de grains d'éléidine (*stratum granulosum*) ; l'accroissement continue ensuite jusqu'au moment où la cellule se transforme en lamelle kératinisée.

(3 Le cas de l'accroissement d'un organe par augmentation de la masse des substances intercellulaires, telles que la substance collagène par exemple, est différent et sera examiné ultérieurement.

des tissus d'un certain nombre de Mammifères pour lesquels la taille cellulaire moyenne a été déterminée par Levi.

Le rapprochement des chiffres obtenus de part et d'autre, ou plus exactement de l'ordre de classement de ces chiffres, ne donne malheureusement pas d'indications précises. Il semble cependant que l'on saisisse une relation entre la quantité d'eau normale ou la valeur de l'imbibition maximum de la cellule hépatique, et la dimension relative de cette cellule ; le tableau suivant réunit quelques chiffres empruntés à Mayer et Schaeffer et à Levi.

	DIAMÈTRE		Valeur de l'imbibition maximum	Teneur en eau normale
	cellule	noyau		
Chien	16,0 μ	5,9 μ	418	236
Cobaye	21,8	7,2	431	278
Lapin.....	23,7	8,3	508	278

Ces chiffres montrent que chez le Chien, le Cobaye et le Lapin, la cellule hépatique contient d'autant plus d'eau par rapport aux substances sèches qu'elle est plus volumineuse, son pouvoir d'imbibition en présence d'eau distillée variant d'ailleurs dans le même sens. Ceci n'est qu'une indication dont le sens demanderait à être précisé par l'étude d'autres éléments ; remarquons d'ailleurs que la cellule hépatique est assez mal choisie pour établir des comparaisons de cet ordre, étant donné la variabilité de sa surcharge glycogénique (1).

Boveri (1905) a pensé qu'il existe un rapport entre la taille d'une cellule et la masse de son noyau ; cette hypothèse est fondée sur une ingénieuse expérience qui est en quelque sorte la contre-partie de l'expérience de Driesch citée plus haut :

Un œuf d'Échinoderme non fécondé est fragmenté en deux parties sensiblement égales dont une est anucléée ; le fragment anucléé étant fécondé par un spermatozoïde entre en segmentation et donne une blastula moitié plus petite que celle résultant de la segmentation d'un œuf entier ; *or cette blastula comporte le même nombre de cellules qu'une blastula normale*, donc ces cellules sont environ deux fois plus petites que normalement. On peut encore exprimer ce résultat en disant que les cellules de segmentation formées aux dépens *d'un seul pronucléus*, c'est-à-dire d'une seule masse nucléaire représentant la valeur 1/2, sont de taille réduite à 1/2.

Inversement, un œuf de *Strongylocentrotus* possédant accidentel-

(1) Voir Gruzewska et Fauré-Fremiet (1922), Noel (1922), etc.

lement un nombre double de chromosomes donne des cellules de segmentation deux fois plus grosses que normalement.

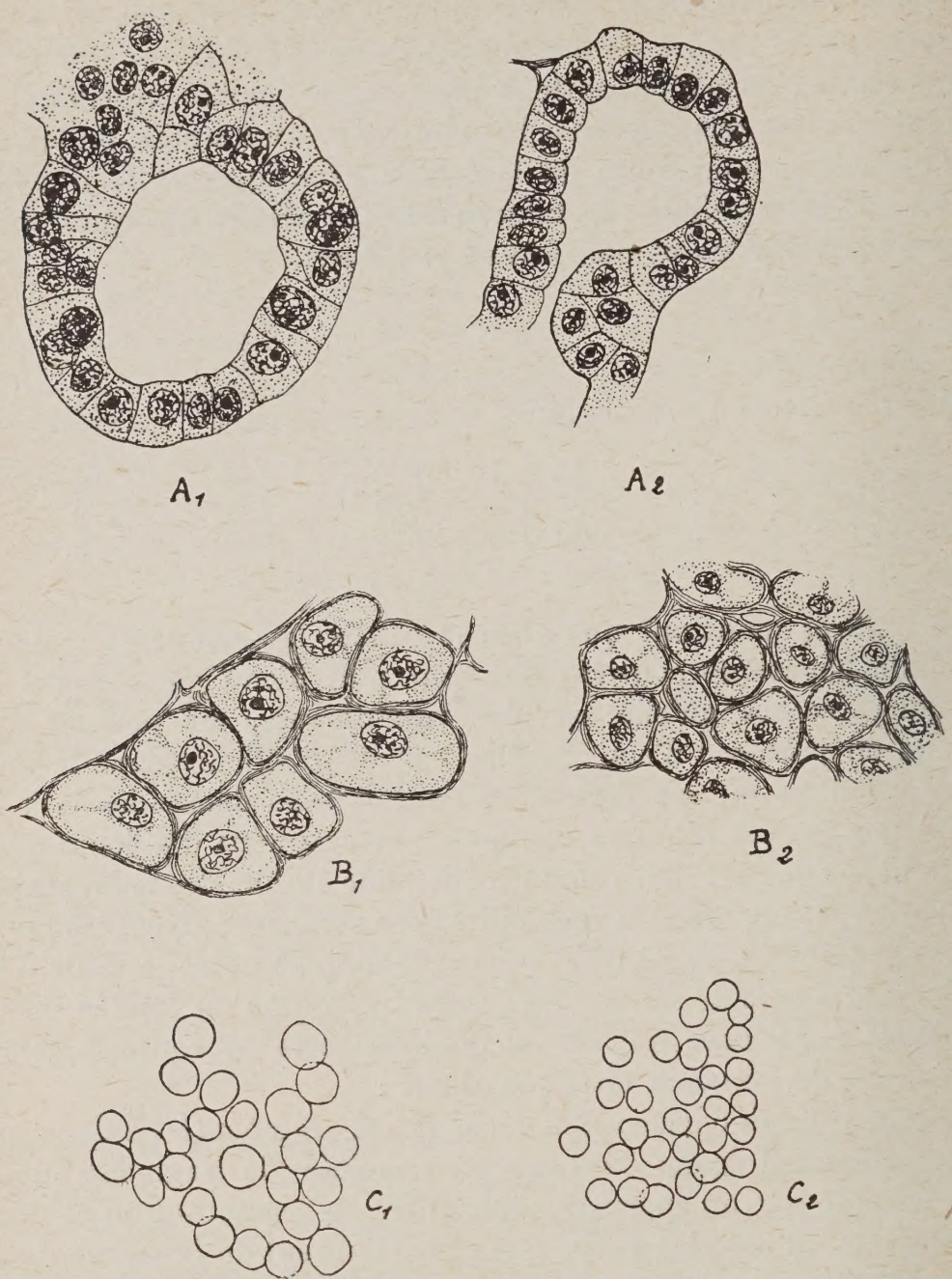


Fig. 10. — Comparaison de la grandeur des cellules provenant de la segmentation d'un amphikaryon ou d'un monokaryon chez un têtard provenant d'un œuf polyspermique, d'après Herlant, 1911.

A_1 Ébauche rénale issue d'un amphikaryon. — A_2 *Idem*, provenant d'un monokaryon. — B_1 et B_2 Même comparaison pour le cartilage. — C_1 et C_2 Même comparaison entre la grandeur des noyaux dans le système nerveux central.

Une vérification intéressante de cette démonstration est apportée par une observation de Zur Strassen (1898) sur les embryons géants d'*Ascaris* dus à la coalescence de deux oocytes au moment de la fé-

condation et de la formation des membranes. Le nombre et la disposition typique des cellules de segmentation demeurent normaux, mais leur volume est doublé ; on pourrait objecter, à l'égard de cette observation intéressante, que l'augmentation de masse nucléaire est accompagnée d'une augmentation de la masse cytoplasmique. Tel n'est plus le cas dans les expériences de Boveri sur des œufs dispermiques et surtout dans celles de Brachet (1910) et de Herlant (1911) qui ont étudié le développement des œufs de Grenouille polyspermiques. La segmentation de ces œufs isole simultanément un blastomère autour du noyau de fécondation et de chacun des pronucléus en excès ; pendant la suite du développement, les cellules homologues issues de chacun de ces blastomères présentent des dimensions différentes (fig. 10) suivant qu'elles possèdent un amphikaryon (provenant par division du noyau de fécondation) ou bien un monokaryon (provenant de même d'un simple pronucléus). Cette comparaison est particulièrement suggestive aux stades un peu avancés, entre les cellules des ébauches musculaires d'un même embryon par exemple.

Dans l'hypothèse de Boveri comme dans les expériences qui en constituent la démonstration, le facteur qui déterminerait la grandeur cellulaire est la masse chromatique du noyau qui, dans les conditions expérimentales décrites, varie pour chaque cellule entre 1/2 et 2. Cette masse chromatique est représentée par le *nombre* et la *grandeur* des chromosomes, plus que par le volume total du noyau qui peut varier indépendamment. Boveri admet cependant que la surface nucléaire est approximativement proportionnelle à la masse chromatique.

Gerassimoff avait déjà conclu de ses recherches sur les cellules de *Spirogyra* que le volume cellulaire est une fonction de la masse de chromatine ; mais ce sont les travaux de R. Hertwig et de ses élèves qui ont précisé cette notion.

Richard Hertwig (1903) constate une croissance relative plus rapide des noyaux que du cytoplasma chez l'*Actinosphaerium* abondamment nourri ; mais la proportion normale peut se rétablir par un mécanisme particulier : l'émission de substances nucléaires qui passent dans le cytoplasma. En cas de disette, on observe la dégénérescence de quelques noyaux, mais la régulation inverse de la précédente ne se produit pas.

Devant ces faits Hertwig conclut que le cytoplasma et le noyau dépendent étroitement l'un de l'autre ; en effet, 1° le noyau s'accroît par l'intermédiaire du cytoplasma ; 2° il existe dans le cytoplasma des substances nucléaires, constituant les « chromidies ».

Dans les conditions normales, l'élaboration des substances néces-

saires au cytoplasma et au noyau se poursuit dans un rapport quantitatif qui règle l'équilibre de ces deux constituants cellulaires ; dans d'autres conditions, l'un de ces processus peut être avantagé, et le noyau, par exemple, s'accroît plus vite que le cytoplasma.

Ces conditions peuvent être assez diverses ; chez les Infusoires, la culture à basse température entraîne une hypertrophie du macronucléus, tandis que la limite maximum de la taille cellulaire augmente ; Hertwig suppose que le noyau emprunte au cytoplasma plus de substances qu'à l'ordinaire et que l'activité nucléaire prend le pas sur l'activité cytoplasmique ralentie.

Chez les Infusoires suralimentés, on observe des périodes de ralentissement de l'activité multiplicatrice, c'est-à-dire des phases pendant lesquelles l'équilibre normal se rétablirait entre les masses nucléaires et cytoplasmiques. De tous ces faits ressort l'idée nouvelle d'une relation nucléoplasmique qui est un facteur de la division cellulaire et par conséquent de la grandeur cellulaire.

Mais les observations et les expériences de R. Hertwig portent sur des noyaux cellulaires qui ne comportent pas de chromosomes, ou chez lesquels ces éléments sont mal définis ; l'idée d'une relation nucléoplasmique suppose donc celle d'un rapport nécessaire entre la masse totale du cytoplasma et la masse totale du noyau, contrairement à l'hypothèse de Boveri qui ne faisait intervenir que la masse des chromosomes. Enfin cette idée fait intervenir la notion d'un équilibre entre les activités propres du cytoplasma et du noyau, lequel diffère de l'équilibre physique prévu par les tentatives d'application de la règle des phases au système cellulaire considéré pendant un temps très court, en ce qu'il suppose des interactions chimiques lentes et totalement indéterminées d'ailleurs.

Des recherches d'ordre quantitatif ont précisé ces premières données.

R. Hertwig (1908) et surtout Popoff (1908) ont effectué des mesures sur un Infusoire, *Frontonia leucas*, dont la forme se ramène approximativement à celle d'un ovoïde ; la détermination des trois diamètres rectangulaires permet de connaître les trois rayons a, b, c, et le volume est donné par la formule :

$$V = \frac{4}{3} \pi a.b.c.$$

Les mesures sont effectuées sur l'Infusoire total et sur le macronucléus dix minutes après une bipartition, lorsque la forme est régularisée ; elles donnent un volume initial qui servira d'élément de comparaison. Le volume total et le volume nucléaire étant calculés d'après les mesures directes, le volume cytoplasmique est calculé par différence. Enfin toute la première série des mesures est faite à la tempé-

rature de 25° C à laquelle correspond un intervalle moyen de 17 heures entre deux divisions consécutives.

La relation nucléoplasmique peut s'exprimer de diverses manières ; la notation ordinaire est généralement :

$$\frac{\text{Volume nucléaire}}{\text{Volume cytoplasmique}} \text{ ou } \frac{N}{P}$$

que l'on peut calculer pour 100 ; Popoff emploie aussi l'expression inverse $\frac{P}{N}$ (1).

Dix minutes après la division, la relation nucléoplasmique de *Frontonia leucas* correspond à

$$\frac{P}{N} = \pm 70 \text{ ou } 100\,\frac{N}{P} = 1{,}3 \text{ à } 1{,}4.$$

A partir de ce moment, le volume cytoplasmique s'accroît régulièrement et *plus vite que le volume nucléaire*, de sorte qu'après 14 à 15 heures, on obtient les valeurs suivantes :

$$\frac{P}{N} = 100 \text{ ou } 100\,\frac{N}{P} = 1{,}0$$

Il existe donc pendant la croissance, qui sépare deux divisions consécutives d'une cellule, un désaccord entre la croissance cytoplasmique et la croissance nucléaire ; le rapport $\frac{P}{N}$ ou $100\,\frac{N}{P}$ n'est pas constant ; sa variation réalise progressivement l'état que R. Hertwig caractérise sous le nom de tension nucléoplasmique, mais la tension nucléoplasmique ne dépasse pas une valeur limite au delà de laquelle les phénomènes changent : la croissance nucléaire augmente rapidement, les rapports $\frac{P}{N}$ ou $100\,\frac{N}{P}$ varient en sens inverse de leur variation initiale, et vers la 17e heure la masse cytoplasmique et la masse nucléaire ont doublé de volume l'une comme l'autre ; le rapport nucléoplasmique est revenu à sa valeur initiale et l'Infusoire se divise.

R. Hertwig distingue de ce fait deux modes successifs de croissance cellulaire ; la croissance assimilatrice ou fonctionnelle, caractéristique de la première et de la plus longue période, pendant laquelle le rapport $100\,\frac{N}{P}$ diminue lentement chez *Frontonia* de 1,4

(1) Peut-être serait-il plus logique de calculer la proportion de la masse nucléaire par rapport à 100 parties de masse cellulaire, soit $100\,\frac{N}{P+N}$

à 1,0 ; puis la « croissance de division » qui apparaît peu de temps avant ce phénomène et pendant laquelle le rapport $100\,\frac{N}{P}$ augmente rapidement de 1,0 à sa valeur initiale 1,4.

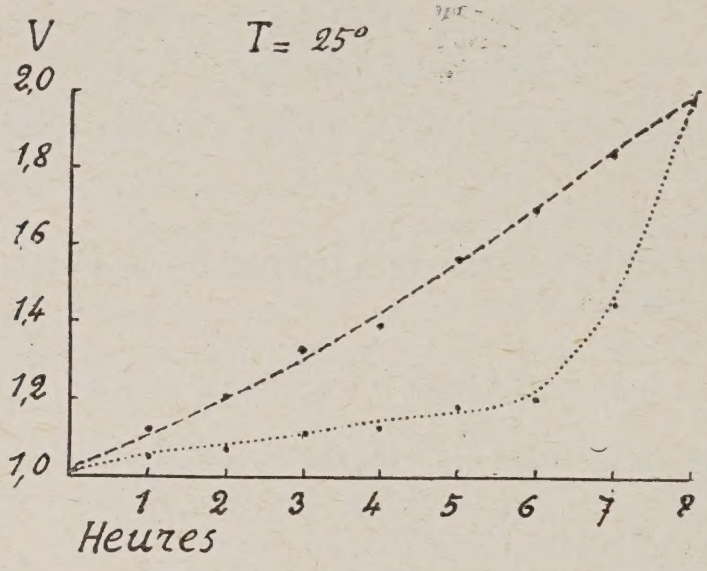


Fig. 11. — Variation volumétrique (rapportée à l'unité) du noyau et du cytoplasma chez *Paramaecium*, d'après Popoff.

Popoff retrouve le même phénomène chez *Paramaecium caudatum* qui, à 25°, se divise toutes les 8 heures ; dix minutes après une bipartition le rapport $\frac{P}{N} = 45$; après 5 heures, il atteint 75 à 76 (tension nucléoplasmique) ; il diminue ensuite et tombe à 66 vers la 6e heure, à 52 vers la 7e, et retrouve sa valeur initiale 45 à la 8e heure, c'est-à-dire au moment de la division.

Koehler (1912) reprend, d'après les mesures et les courbes de Popoff, l'étude des variations du rapport nucléoplasmique qu'il exprime par $\frac{N}{P}$ (inverse de $\frac{P}{N}$) ; il considère la valeur de ce rapport 10 minutes après une bipartition comme une constante cellulaire. de sorte que l'on peut écrire à ce moment $\frac{N}{P} = K$.

A la fin d'une période de croissance intercellulaire, on doit avoir $\frac{2N}{2P} = K$, ce qui est exact en première approximation.

On pourrait supposer *a priori* que les deux termes N et P prennent simultanément toutes les valeurs comprises entre 1 et 2 de sorte que $\frac{N}{P}$ soit toujours constant ; mais les mesures de R. Hertwig et de Popoff qui viennent d'être résumées montrent qu'il n'en est pas

ainsi puisque, tandis que la croissance cytoplasmique est régulière et, tracée en fonction du temps dessine sensiblement une droite, la croissance nucléaire s'exprime par une courbe complexe.

Pendant toute la durée de la croissance dite fonctionnelle, le noyau s'accroît d'une certaine valeur, soit Nf qui porte son volume à la valeur limite V=N $(1+f)$; mais cette valeur est telle que l'on doive écrire :

$$N(1+f) < 2N \text{ ou encore } \frac{N(1+f)}{2P} < K.$$

Cette inégalité exprime la « tension nucléoplasmique » de R. Hertwig, qui déclanche un mécanisme nouveau : la croissance de division Nd. On trouve donc à partir de ce stade :

$$N(1+f+d) = 2N, \text{ d'où } (f+d) = 1 \text{ et } \frac{N(1+f+d}{2P} = K.$$

D'après les courbes de Popoff, Koehler calcule la valeur des coefficients f et d.

Chez *Frontonia leucas* la constante nucléoplasmique $K = \frac{1}{64}$, f=0,2 et d=0,8 ; il semble d'ailleurs être de règle générale que f soit inférieur à d.

On trouve donc :

$$\frac{N(1+0,2+0,8)}{2P} = \frac{2}{128} = \frac{1}{64} = K.$$

Koehler n'introduit évidemment, par ce mode de représentation, qu'une précision apparente dans un ensemble de données connues déjà ; mais cette représentation est suggestive et une observation nouvelle, dont toute l'importance apparaîtra plus tard, en découle. La dernière équation, comme celles plus simples de Popoff, n'est exacte qu'en première approximation.

Les chiffres de Popoff montrent que, en réalité, on trouve l'inégalité $(f+d) > 1$, l'excédent étant d'ailleurs très petit ; mais il en résulte qu'à chaque division on a $\frac{N}{P} > K$ ou $\frac{N}{P} = K + \delta$.

Cette quantité δ est très minime, mais elle s'ajoute à chaque bipartition, de sorte qu'à la division n on aura :

$$\frac{N}{P} = K + \Delta, \text{ et } \Delta = \delta_1 + \delta_2 + \ldots\ldots \delta_n$$

Cette variation lente de la relation nucléoplasmique paraît être

en rapport avec un autre phénomène, la « dépression », que nous devons négliger actuellement (voir p. 282).

Il reste donc à retenir de l'étude chez les Infusoires ciliés de la relation nucléoplasmique :

1° Que pendant la période assimilatrice ou fonctionnelle, le noyau s'accroît sensiblement moins vite que le cytoplasma, d'où l'abaissement progressif du rapport volumétrique $\frac{N}{P}$;

2° Que la tension nucléoplasmique correspond à une certaine valeur minimum de ce même rapport ;

3° Que la tension nucléoplasmique déclancherait un autre mode de croissance nucléaire, ou croissance de division, tel que l'on retrouve $\frac{N}{P} = K$; K étant une constante caractéristique de l'espèce.

4. La relation nucléoplasmique pendant la segmentation de l'œuf. — La segmentation de l'œuf représente un cas très particulier en ce qui concerne l'étude de la relation nucléoplasmique et de sa signification ; elle s'effectue en effet sans accroissement de la masse cytoplasmique.

Mais l'oocyte, avant d'être mûr et fécondable, a traversé une longue période de croissance, pendant laquelle il ne s'est pas divisé ; la masse cytoplasmique s'est accrue beaucoup plus que la masse nucléaire (1) ; cette période est donc comparable à la croissance assimilatrice et l'oocyte mûr est une cellule arrivée au maximum de la tension nucléoplasmique. La fécondation vient déjà diminuer l'écart du rapport $\frac{N}{P}$ avec la constante de l'espèce, en introduisant une masse chromatique étrangère (2), et lorsque la segmentation commence, la masse nucléaire s'accroît entre chaque division, tandis que le rapport $\frac{N}{P}$ augmente continuellement ; lorsqu'il atteint la valeur caractéristique de l'espèce, $\frac{N}{P} = K$, la segmentation s'arrête ou se ralentit considérablement. Tel est le schéma général proposé.

J. Loeb (1910) admet, d'après les observations de Boveri, que le volume de chacun des noyaux de segmentation est sensiblement égal à celui de deux pronucléus ; en conséquence, la masse nucléaire est approximativement doublée à chaque division, ce qui suppose une

(1) Les mesures volumétriques ne vérifient pas toujours, cependant, ce schéma général.

(2) Ce schéma n'explique pas directement les divisions de réduction donnant naissance aux globules polaires.

synthèse des nucléines. Trois remarques doivent être faites à ce sujet :

1° Cette synthèse ne peut s'effectuer qu'aux dépens des substances cytoplasmiques qui sont remaniées ; en effet, la masse totale de l'œuf n'augmentant pas, et la masse nucléaire s'accroissant, celle du cytoplasma doit évidemment diminuer ;

2° Le travail chimique correspondant à cette synthèse est arrêté en milieu anaérobie ; il ne peut s'effectuer que si l'œuf est le siège de phénomènes d'oxydation (1) ;

3° La synthèse des nucléines s'effectuerait suivant un processus d'autocatalyse, car, pendant une première période tout au moins, la masse nucléaire augmente proportionnellement à la masse déjà formée.

En d'autres termes Loeb considère les subtances nucléaires comme un produit de réaction servant de catalyseur à sa propre synthèse ; cependant, la réaction cytoplasma → substance nucléaire tend vers un équilibre après une période d'accélération continue. Il faut admettre que la substance nucléaire *est* ou *contient* un ferment par ailleurs spécifique, et que la limite de la réaction coïncide avec l'épuisement des substances cytoplasmiques transformables.

On a tenté, pour vérifier les hypothèses de Loeb, de mesurer le volume total de tous les noyaux à différents stades de la segmentation, et d'exprimer les variations de cette masse nucléaire totale en fonction du nombre des générations cellullaires. Si les bipartitions cellulaires sont synchrones, ce qui est approximativement le cas dans la segmentation d'un certain nombre d'œufs, le nombre total des cellules et celui des générations sont liés par une relation telle que si l'on désigne par a le nombre total des cellules et par n le nombre des générations, on trouve :

$$a = 2^n \quad \text{et} \quad \log a = n \log 2 \quad \text{d'où} \quad n = \frac{\log a}{\log 2}.$$

Pour connaître le nombre des cellules aux stades avancés de la segmentation différentes méthodes peuvent être employées ; l'une d'entre elles consiste à compter le nombre des noyaux sur une coupe médiane de blastula, par exemple, et à faire la moyenne d'un grand nombre de mesures ; le nombre total est calculé en supposant la blastula exactement sphérique ; cette numération est forcément approximative.

Le volume nucléaire *moyen* étant déterminé d'après un grand nombre de mesures de diamètres, le volume nucléaire total est obtenu en multipliant le volume moyen par le nombre des noyaux. Il est bien évident qu'une faible erreur dans la numération des noyaux

(1) Rappelons les travaux de Lillie sur les oxydations qui s'effectueraient au contact du noyau et celles de Unna sur le noyau en tant que « lieu d'oxygène ».

ou dans l'estimation du volume moyen se trouve multipliée à la suite de ce calcul.

Les mesures de Godlewski sur l'œuf d'*Echinus microtuberculatus* donnent les chiffres suivants :

Nombre des générations	Stade	Volume nucléaire total	Progression géométrique correspondante de raison 2
—	—	—	—
	Pronucléus ♀.....	650 μ^3	
	Noyau de fécondation..	1.300 —	1.300
1.....	Stade 2	1.582 —	
2.....	— 4	2.084 —	2.600
5.....	— 32	19.938 —	20.800
6.....	— 64	30.262 —	41.000
±10.....	± 125	±30.717 —	±665.000

La première division se fait donc sans augmentation du volume nucléaire ; ensuite l'accroissement se fait sensiblement suivant la progression géométrique prévue par l'hypothèse de Loeb. La courbe d'accroissement du volume nucléaire V correspond sensiblement à l'équation

$$\log V = 0{,}26\ \beta - 0{,}12,$$

dans laquelle β représente le nombre des générations ou bipartitions ; mais cette équation ne s'applique que pour les valeurs du volume nucléaire total comprises entre $1{,}3.10^{-6}$ et 30.10^{-6} cm³. Au delà de cette valeur qui correspond au stade 64, commence une seconde période de la segmentation pendant laquelle les noyaux de plus en plus nombreux deviennent également de plus en plus petits.

Chez *Vespertilio murinus*, G. Levi (1914) trouve les valeurs suivantes au cours de la segmentation de l'œuf :

Nombre de bipartitions	Stade	Volume nucléaire total
—	—	—
	Noyau de fécondation	4.143 μ^3
1.....	Stade 2	3.800 —
	— 3	3.422 —
2.....	— 4	3.705 —
3.....	— 8	5.450 —
4.....	— 16	8.610 —
5.....	— 32 (environ)	19.000 —
6.....	— 64 (environ)	34.000 —

Jusqu'au stade IV la masse nucléaire diminue ; à partir de ce stade qui correspond à une deuxième période de la segmentation, cette masseaugmente suivant une progression approximativement logarithmique et correspondant à l'équation

$$\log V = 0{,}24\ \beta + 0{,}05$$

pour les valeurs comprises entre $3{,}4.10^{-6}$ et 34.10^{-6} cm³. On n'observe pas ici, comme chez *Echinus*, un ralentissement de l'accroissement de

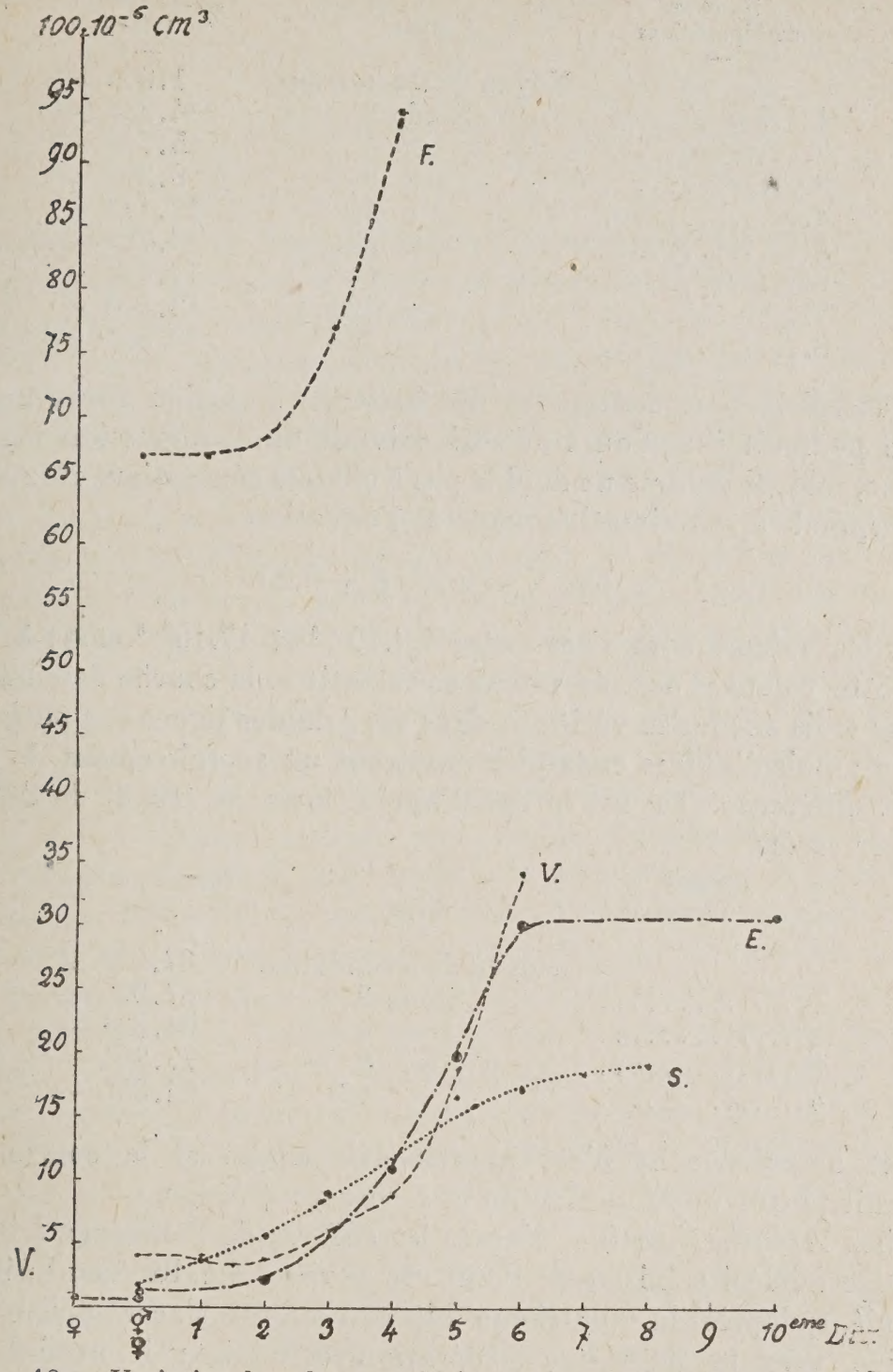


FIG. 12. — Variation du volume nucléaire total au cours de la segmentation.

E. *Echinus microtuberculatus*, d'après GODLEWSKI. — S. *Styela partita*, d'après CONKLIN. V. *Vespertilio murinus*, d'après G. LEVI. — F. *Fulgor carica*, d'après CONKLIN.

masse nucléaire, mais la masse cytoplasmique de l'œuf commence à s'accroître à partir des stades avancés.

Chez *Styela* (*Cynthia partita*) les chiffres de CONKLIN (1912) in-

diquent encore une même forme d'accroissement de la masse nucléaire :

Nombre de bipartitions	Stade	Volume nucléaire total
	Noyau de fécondation	1.809 μ^3
1.....	Stade 2	4.289 —
2.....	— 4	5.748 —
3.....	— 8	9.203 —
4.....	— 16	11.173 —
5.....	— 32	16.755 —
6.....	— 64	17.152 —
7.....	— 128	18.408 —
8.....	— 256	19.395 —

L'accroissement commence dès le stade de fusion des pronucléus et se poursuit jusqu'au stade 64 suivant une progression logarithmique, mais le volume ne double pas à chaque génération, et la courbe correspond approximativement à l'équation

$$\log V = 0{,}199\,\beta + 0{,}25$$

pour les valeurs comprises entre $1{,}8.10^{-6}$ et 17.10^{-6} cm³ ; à partir de cette valeur, l'accroissement se ralentit et la courbe dessine un S.

Ces trois exemples vérifient dans ses grandes lignes l'hypothèse de Loeb ; mais d'autres exemples montrent un accroissement de forme assez différente. Tel est le cas d'après Conklin (1912) de l'œuf de *Fulgor carica*.

Nombre de bipartitions	Stade	Volume nucléaire total
	Noyau de fécondation	67.020 μ^3
1.....	Stade 2	67.020 —
2.....	— 4	68.628 —
3.....	— 8	77.204 —
4.....	— 16	94.356 —

Cet accroissement n'est plus logarithmique et la courbe indiquerait plutôt une fonction de la forme ax^2+bx+c.

Chez *Aplysia limacina*, d'après les chiffres de Enriquez (1914), le volume nucléaire initial de l'œuf est environ $4{,}4.10^{-6}$ cm³ ; il n'est doublé qu'après la quatrième bipartition, et s'accroît lentement jusque vers la neuvième génération cellulaire ; il atteint alors $26{,}9.10^{-6}$ cm³, puis il augmente brusquement de plus du double, dans un espace de temps correspondant à peu près à une nouvelle génération de cellules de segmentation.

Enfin, la segmentation de l'œuf de *Crepidula plana* d'après Conklin accuse un accroissement moyen de la masse nucléaire extrêmement faible.

Nombre de bipartitions	Stade	Volume nucléaire total
	Noyau de fécondation	21.375 μ^3
1.....	Stade 2	14.476 —
2.....	— 4	23.100 —
3.....	— 8	25.144 —
4.....	— 16	23.628 —
5.....	— 24	39.164 —

On observe ici une diminution sensible au stade II, puis une augmentation très faible, et le volume nucléaire total est à peine doublé peu après la quatrième bipartition.

Chez l'*Ascaris megalocephala*, si le volume des deux pronucléus est égal à 100, le volume nucléaire total au stade LVI serait environ 106 (Fauré-Fremiet 1913, voir aussi A. Boring 1909). L'augmentation est donc insignifiante, mais il faut tenir compte du fait très spécial de la « diminution chromatique » des cellules somatiques.

En résumé, la comparaison des courbes de variations du volume nucléaire en fonction du nombre des générations cellulaires, montre que la forme et la valeur de cet accroissement est très variable. Enriques admet d'ailleurs qu'il existerait deux types d'œufs, suivant que ceux-ci seraient à l'origine pauvres ou riches en chromatine, oligokaryotiques ou megalokariotiques. Dans l'ensemble, les documents réunis ne sont pas contradictoires avec l'hypothèse de Loeb, et l'on observe souvent une courbe logarithmique régulière, avec un ralentissement final indiquant une tendance à donner des courbes en forme de S ; celles-ci s'observent dans les phénomènes d'autocatalyse, comme le remarque W. Ostwald en citant les courbes figurées par Genthe (pour l'auto-oxydation de l'huile de lin).

Est-il possible de conclure qu'il y a réellement synthèse de substances nucléaires pendant la segmentation ? Il faudrait d'abord savoir ce que l'on entend par le terme substance nucléaire, et à supposer que celui-ci désigne des « nucléines » proprement dites, il faudrait être certain que le volume du noyau est toujours proportionnel à la masse de ces substances. Ce problème ne peut être abordé que par des méthodes chimiques qui se heurtent d'ailleurs à de sérieuses difficultés.

J. Loeb (1911) pense avec Burian et Steudel que l'acide glycérophosphorique de la lécithine peut contribuer, après avoir été détaché des phosphatides par hydrolyse, à la constitution des nucléines nouvelles, c'est-à-dire à la synthèse des « substances nucléaires » prévue d'après l'augmentation volumétrique constatée pendant la segmentation. Si cette hypothèse est exacte, les phosphatides doivent diminuer progressivement dans le cytoplasma. Schackell (1911) tente cette vérification sur l'œuf d'*Arbacia punctulata* et dose

séparément : 1° le phosphore des lipoïdes isolés par l'extraction alcoolique, et 2° le phosphore des nucléines isolées comme résidus de la digestion peptique des œufs. La comparaison des dosages effectués sur des œufs au début de la segmentation (stades II et IV) et au stade blastula ne révèle aucune différence. Malheureusement, la valeur des méthodes d'isolement des deux catégories de substances phosphorées n'est pas à l'abri de toute critique.

Masing (1910) tente d'isoler les nucléines dont il dose le phosphore, et les bases puriques dont il dose l'azote ; les chiffres rapportés à l'azote total de l'œuf n'accusent pas de modification au cours de la segmentation. Masing trouve en effet pour le phosphore les valeurs suivantes :

Œufs non fécondés ..... P= 3,6 pour 100 d'azote.
Œufs fécondés non segmentés... — 4,1 ; 4,1 = 4,1 (moyenne).
Œufs fécondés et segmentés.... — 3,9 ; 3,7 ; 4,1 ; 4,7 = 4,1 (moyenne).

En dehors de l'augmentation due à l'apport des spermatozoïdes, on voit que le phosphore des nucléines ne varie pas pendant la segmentation ; il en est ainsi pour l'azote des bases puriques dont le taux se maintient très étroitement autour de 4,6 % d'azote total.

Masing conclut qu'il n'y a pas synthèse de nucléines au cours de la segmentation, et que, de ce fait, les substances nucléaires ou la « chromatine » ne sont pas identiques aux nucléines vraies. Il admet d'ailleurs qu'il existe de l'acide nucléique dans le cytoplasma ovulaire, dont on connaît l'affinité pour les couleurs basiques ; l'augmentation de la masse nucléaire totale peut donc s'effectuer aux dépens des réserves nucléiniques cytoplasmiques, et l'arrêt ou le ralentissement de cette croissance nucléaire serait dû à l'épuisement de ces réserves.

Fauré-Fremiet (1913) ne trouve pas de différences quantitatives importantes entre la teneur en phosphore lipoïdique, inorganique et total au cours de la segmentation de l'œuf d'*Ascaris*. Il semble tout au plus que le phosphore des nucléines, estimé par différence, puisse diminuer tandis que le phosphore lipoïdique augmenterait légèrement. Rappelons encore combien le cas de la segmentation de l'œuf d'*Ascaris* est spécial (1).

On trouvera dans le remarquable travail de Le Breton et G. Schaeffer (1923) une critique très documentée de ces différentes

(1) Les œufs d'*Ascaris* avant ou après développement peuvent être lavés dans une solution alcaline qui détruit les spermatozoïdes libres, le protoplasma ovulaire restant protégé par ses deux membranes de chitine et de cire.

recherches, et l'exposé d'une méthode permettant d'aborder au point de vue quantitatif la recherche de l'acide nucléique dans certains tissus embryonnaires tout au moins.

Il est certain que l'accroissement de la masse nucléaire totale ne peut être étudié efficacement qu'au point de vue chimique ; malheureusement, la méthode mise au point par Schaeffer et Le Breton n'élimine pas encore toutes les difficultés d'ordre technique et pratique que l'on rencontre dans ces recherches, et l'on peut admettre que dans les conditions actuelles, toute conclusion affirmative pour ou contre l'hypothèse de Loeb est encore prématurée ; mais l'idée de la relation nucléoplasmique ne suppose pas un équilibre pondéral entre des substances de nature chimique déterminée. L'idée primitive de Hertwig est celle d'une sorte d'équilibre qui, d'ailleurs, pourrait être réversible entre deux masses organisées, le cytoplasma et le noyau, dont les formes diverses d'activité chimique sont étroitement liées et interdépendantes ; nous avons souligné que ce point de vue est à peine différent de celui auquel conduisent les tentatives d'utilisation de la règle des phases en matière de structure cellulaire, et cela signifie qu'à côté des relations de *masse*, les relations de *surface* ont une importance de premier ordre ; cette considération permet, devant l'insuffisance des données chimiques, d'attacher plus de valeur aux mesures de volume du noyau et du cytoplasma, bien que leur précision soit beaucoup plus apparente que réelle. Nous pouvons donc conclure :

1° Que l'étude chimique de la croissance nucléaire pendant la segmentation doit être précisée ;

2° Que l'accroissement du volume nucléaire total est la règle au cours de la segmentation, que sa valeur est très variable et que, de toute manière, il s'effectue aux dépens de la masse cytoplasmique qui ne s'accroît pas ;

3° Que la relation nucléoplasmique exprimée sous la forme $\frac{N}{P}$ augmente au cours de la segmentation jusqu'au moment où les divisions cellulaires se ralentissent ;

4° Que, dans l'hypothèse de Hertwig et de ses élèves, cette valeur limite, réalisée au moment de l'arrêt de la multiplication cellulaire, correspond au retour du rapport $\frac{N}{P}$ considérablement modifié pendant la « croissance fonctionnelle » de l'oocyte à sa valeur normale K caractéristique de l'espèce étudiée.

En d'autres termes, de même que chez l'Infusoire, la « croissance de division » du noyau rétablit l'équilibre nucléoplasmique perturbé pendant la croissance fonctionnelle, de même, en ce qui concerne

l'œuf, la série des divisions rapides de la segmentation rétablit cet équilibre rompu pendant l'accroissement de l'oocyte. A partir de ce moment, les divisions cellulaires ne réapparaissent, comme chez l'Infusoire, qu'au cas où la masse cellulaire présente un accroissement propre et *la taille cellulaire est fixée à partir de ce stade* dans la mesure relative où nous avons vu que la loi de Driesch est applicable pendant le développement.

La relation nucléoplasmique, en tant que relation volumétrique $\frac{N}{P}$, est une grandeur en relation directe avec les changements d'état qui règlent la dimension cellulaire, ou plus exactement, qui *limitent* l'étendue de ses variations, puisque les phénomènes de la division sont déclanchés pour une certaine valeur de la « tension nucléoplasmique », c'est-à-dire de la variation de $\frac{N}{P}$ qui accompagne la croissance.

Un autre ensemble de recherche va nous montrer, maintenant, que l'on ne peut parler de valeur constante de la relation nucléoplasmique, ou de la taille cellulaire, que dans des conditions déterminées de température.

5. **Variation expérimentale du rapport $\frac{N}{P}$ et de la grandeur cellulaire.** — Si la relation nucléoplasmique exprime vraiment, comme le pensent Hertwig et Loeb, un équilibre fonctionnel, il est vraisemblable que celui-ci sera déplacé sous l'influence d'une variation de température, comme les équilibres physiques que nous avons étudiés dans le premier chapitre.

Une variation de température pourra donc modifier la « constante » $\frac{N}{P} = K$ caractéristique d'une espèce cellulaire, et la taille cellulaire régie par cette constante devra varier également.

Une première démonstration de ce fait capital a été donnée par Popoff (1908).

Le tableau suivant résume, en mesures arbitraires, les données volumétriques relatives à des *Frontonia leucas* de même souche, mais cultivés quelque temps à des températures différentes et constantes telles que 14° et 25° C.

Température	14°	25°
Volume total	1.080	800
Volume cytoplasmique	1.060	787,5
Volume nucléaire	20	12,5
Rapport $100\frac{N}{P}$	1,8	1,5

A 14° les cellules sont plus grandes qu'à 25°, et l'accroissement du volume nucléaire est plus grand que l'accroissement du volume cytoplasmique. Le rapport $\frac{N}{P}$ est donc plus fort.

En même temps la vitesse de division varie. RAUTMANN (1909) a serré de plus près l'analyse de cette action de la température en examinant les variations concomitantes du rapport $\frac{N}{P}$ et du coefficient exprimant la vitesse de bipartition.

Ces nouvelles expériences ont porté sur *Paramaecium caudatum*, dont le volume était ramené à celui d'un ellipsoïde de révolution, et calculé d'après la mesure des deux diamètres de l'ellipsoïde et des deux rayons a et b correspondants, d'après la formule :

$$V = \frac{4}{3} \pi \, ab^2$$

les mesures étaient faites comme toujours 10 minutes après la bipartition et ont porté sur de nombreux individus appartenant à deux cultures différentes, et élevés aux températures suivantes : 10°, 15° 20° et 25°. Les moyennes des résultats obtenus avec les Infusoires de la culture A (voir fig. 13) sont résumées dans le tableau suivant (volume exprimés en valeurs arbitraires) :

Température (Degrés C)	Volume cytoplasmique	Volume nucléaire	$100 \frac{N}{P}$	$\frac{P}{N}$
10°	136,5	10,5	7,6	13,1
15°	109,9	7,3	6,6	15,0
20°	98,0	5,4	5,5	18,2
25°	90,1	6,2	6,8	15,7

Donc, chez *Paramaecium* comme chez *Frontonia*, la relation nucléoplasmique varie avec la température ; mais en expérimentant avec une série de températures différentes, on constate que la variation n'est pas continue et qu'il existe un optimum aux environs de 20°.

Tout au contraire, la variation de la vitesse de division, sur laquelle nous reviendrons plus tard, varie régulièrement dans cette échelle de températures et augmente continuellement entre 10° et 25°. Aux températures élevées, la division cellulaire intervient avant que le volume total n'ait atteint une valeur normale, et la taille est diminuée.

HERTWIG (1903) avait déjà insisté sur l'augmentation de taille des Infusoires cultivés aux basses températures, et sur l'hypertrophie nucléaire concomitante.

Les mêmes expériences ont été faites sur des œufs en voie de segmentation.

Marcus (1906) opère sur l'œuf de *Strongylocentrotus lividus* en voie de segmentation à diverses températures.

Le nombre des cellules est calculé d'après les numérations effec-

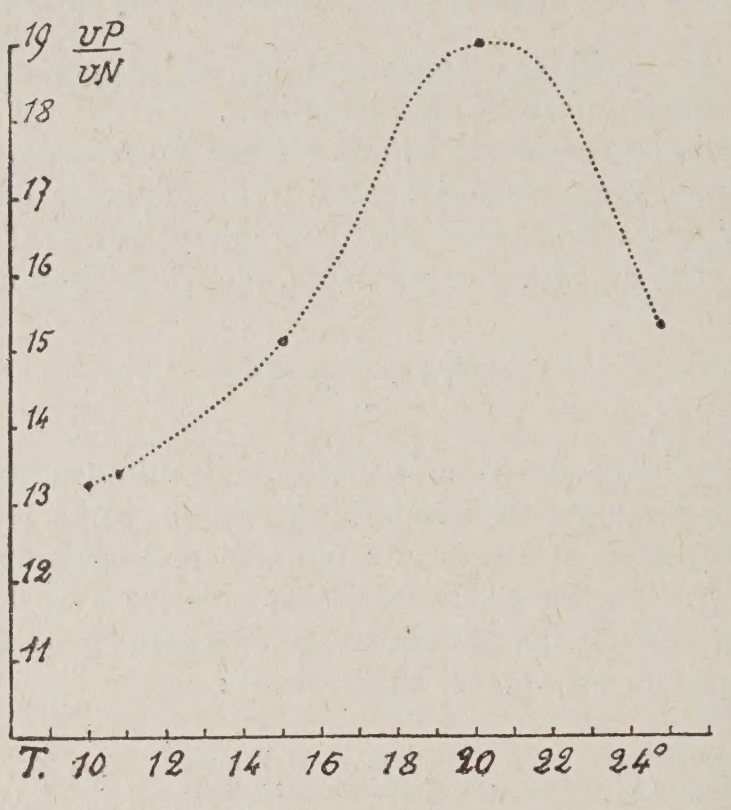


Fig. 13. — Variation de la relation nucléoplasmique en fonction de la température chez *Paramaecium caudatum*, d'après Rautmann.

tuées sur des coupes optiques de blastula. Les résultats suivants sont obtenus pour un même stade, réalisé en des temps différents :

Température de la culture	Nombre de cellules	Volume cellulaire relatif	Volume nucléaire relatif
22°	1.650	1	1
17°-19°	1.045	1,5	2,25
9°	680	2,5	3,33

A basse température les cellules sont à la fois moins nombreuses et plus grosses, c'est-à-dire que les divisions ont été moins nombreuses, mais la variation du volume nucléaire n'est pas parallèle à celle du volume cellulaire, et, comme dans le cas des Infusoires, le rapport $\frac{N}{P}$ augmente aux basses températures.

Chambers (1908) a obtenu sur le Têtard de Grenouille des résultats identiques qui seront examinés plus loin.

Godlewski jun. (1908), avant d'étudier l'influence de la température sur la grandeur cellulaire, examine l'influence de deux autres facteurs : la pression osmotique et la réaction du milieu.

L'action de la concentration de l'eau de mer sur la segmentation d'*Echinus microtuberculatus* a donné les résultats suivants, déterminés à un stade typique :

Milieu	Nombre de cellules	Volume des noyaux	Volume nucléaire total
Eau de mer 40 cc... Eau distillée 10 cc..	902	41,67	37,501
Eau de mer normale	1.331	24,45	32,551
Eau de mer 45 cc. Eau de mer concentrée de $\frac{2}{1}$, 5 cc..	1.781	18,49	32,926

Le nombre des cellules produites par bipartition à un même stade est d'autant plus élevé que la concentration moléculaire est plus forte ; la différence extrême, dans les conditions expérimentales ci-dessus, atteint la valeur correspondant à une génération cellulaire.

Le volume nucléaire total s'accroît notablement en milieu hypotonique, et légèrement en milieu hypertonique ; malheureusement, la variation du volume cellulaire total n'a pas été déterminée.

L'action de l'alcalinité du milieu sur la segmentation du même œuf donne aussi des variations du nombre des cellules et du volume nucléaire total. Dans le tableau suivant, le pH *approximatif* des mélanges utilisés par Godlewski est déterminé d'après des expériences personnelles :

Milieu	pH (approximatif) correspondant	Nombre de cellules	Volume des noyaux	Volume nucléaire total
Eau de mer 100 cc. Acide acétique $\frac{N}{10}$ 0,4	7,0	1.138	28,76	32,730
Eau de mer normale..	8,2	1.256	24,45	30,716
Eau de mer 100 cc. NaOH $\frac{N}{10}$ 1 cc.....	8,7	1.841	14,12	26,114

Les bipartitions ont été un peu plus nombreuses (moins d'une génération) dans le milieu alcalin que dans le milieu neutre ; le volume nucléaire total est un peu plus faible dans ce même milieu.

Enfin, l'action de la température donne les résultats suivants un peu moins accentués que dans l'expérience de Marcus :

Température	Nombre de cellules	Volume des noyaux	Volume nucléaire total
12°	809	38,8	31,417
21°	1.467	20,6	30,276

Le nombre des cellules est presque deux fois moindre à 12° qu'à 21°, mais le volume nucléaire total est très légèrement supérieur.

En résumé, l'accroissement de la pression osmotique, de l'alcalinité ou de la température détermine un même résultat : l'abaissement de la grandeur cellulaire caractéristique d'*un stade déterminé* (1), c'est-à-dire l'accroissement du nombre des divisions cellulaires réalisées jusqu'à ce stade. Mais les variations volumétriques de la masse nucléaire totale sont faibles, et, bien que Godlewski n'aie pas mesuré les volumes cellulaires, on pourrait supposer que le rapport $\frac{N}{P}$ varie peu entre ces différents cas. Cependant, la quantité absolue de chromatine représentée par le *nombre des chromosomes* varierait en sens inverse du volume nucléaire total, puisque ce nombre augmente proportionnellement à celui des noyaux. Ces premières constatations demandent une analyse beaucoup plus serrée pour être utilisables, et les déterminations nouvelles de Erdmann (1919) sur l'œuf de *Strongylocentrotus lividus* apportent déjà plus de précision.

Erdmann constate tout d'abord que la variation absolue du volume nucléaire total est plus complexe que ne le pense Godlewski et peut être influencée, indépendamment de la pression osmotique du milieu, par la nature des sels présents en excès dans celui-ci ; il en est de même pour le volume cellulaire total, et les chiffres suivants sont obtenus après sept heures de séjour de l'œuf en voie de segmentation dans les solutions indiquées :

	Eau de mer + NaCl	Eau de mer normale	Eau de mer + $MgCl^2$
Diamètre des noyaux....	6	8	10
Rayon de la blastula.....	6	6,5	7

Le volume augmente dans une solution rendue hypertonique par addition de $MgCl^2$, et l'augmentation est plus forte pour le noyau que pour la cellule tout entière.

Trois constatations importantes résultent des expériences de Erdmann sur l'action de la température.

(1) Insistons sur le fait que les comparaisons ne sont pas faites en fonction du temps, mais seulement de l'évolution morphologique de la larve.

La première est que, dès le stade II, le *volume cellulaire total* est accru à basse température, et nettement diminué à température élevée. Les chiffres suivants mesurent en valeurs absolues le volume total de l'œuf aux stades II et XXXII et à trois températures différentes :

Température.....	10° C	15°-16° C	20° C
1re bipartition (stade 2)	$21,2.10^{-9}cm^3$	$20,0.10^{-9}$	$19,9.10^{-9}$
5e bipartition (stade 32).	$19,2.10^{-9}$	$15,4.10^{-9}$	$10,8.10^{-9}$
Perte.....	9,3 %	22,9 %	45,3 %

On voit ainsi que le volume total diminue au cours de la segmentation, et d'autant plus vite que la température est plus élevée ; nous verrons plus loin que les processus respiratoires augmentent avec la température, et que l'œuf ne pouvant se nourrir subit une perte non compensée en carbone et en eau, d'autant plus forte que la température est plus élevée.

La deuxième constatation d'Erdmann confirme les résultats de Marcus et de Godlewski, à savoir que la vitesse de division cellulaire diminue beaucoup plus vite à basse température que la vitesse des processus morphogéniques. Un même stade, blastula, par exemple, est donc réalisé avec des cellules moins nombreuses, et d'autant plus volumineuses que leur nombre est moindre et que le volume total est moins diminué.

Enfin, la troisième constatation vérifie les données de Marcus : le volume nucléaire total s'accroît plus vite aux températures basses qu'aux températures élevées. Il faut cependant distinguer l'augmentation *absolue* mesurée en fonction du temps, et l'augmentation *relative*, mesurée en fonction du nombre des générations cellulaires. Voici quelques-uns des chiffres obtenus :

	VOLUME NUCLÉAIRE	
Température	Augmentation relative Stade 32	Augmentation absolue Temps : 10 h. après fécondation
	—	—
20°	$10,7.10^{-8}$	15.10^{-8}
15°-16°	$16,0.10^{-8}$	25.10^{-8}
10°	$25,6.10^{-8}$	10.10^{-8}

Si l'exactitude des mesures d'Erdmann est suffisante, il paraît bien évident que les processus de la division cellulaire et de la croissance nucléaire varient différemment en fonction de la température, et que, par conséquent, à chaque température correspond une valeur différente du rapport nucléoplasmique $\frac{N}{P}$ et de la taille cellulaire maximum.

Mais Koehler (1912) critique précisément les méthodes de mesure employées par les précédents expérimentateurs. Il opère de manière

un peu différente ; il calcule *directement*, toujours chez *Strongylocentrotus lividus*, le volume total de la masse des macromères, des micromères et des mésomères, et, divisant le chiffre obtenu par le nombre de ces cellules, obtient indirectement leur volume individuel moyen. Le nombre des cellules est donné par la numération des noyaux effectuée suivant la méthode de Schmidt (1904).

Cette méthode de mesure répétée à dix stades successifs ne montre pas les variations du volume total notées par Erdmann, et Koehler admet avec Driesch et Boveri que le volume de l'embryon reste constant ; voici quelques chiffres exprimant le volume total :

Température	10°	16°	22°
1re Bipartition .	249.800	285.250	265.070
5e Bipartition . .	288.768	263.370	274.214

Les moyennes des valeurs trouvées à chacune de ces températures pendant dix générations cellulaires sont : 249.849 à 10°, 259.132 à 16°, 256.538 à 22°.

L'écart maximum entre ces chiffres moyens est de 3,5 %.

Si ces mesures sont plus exactes, on doit admettre :

1° Que le volume cellulaire total ne diminue pas pendant la segmentation de l'œuf, ce qui est en contradiction avec les observations précédentes, et peu vraisemblable, *sauf si* l'imbibition protoplasmique augmente de manière à compenser les pertes dues aux échanges respiratoires ;

2° Que le volume cellulaire total ne varie pas avec la température, ce qui est en contradiction avec les résultats d'Erdmann.

Par contre, en ce qui concerne le volume nucléaire total, Koehler trouve comme Erdmann une augmentation caractéristique aux basses températures. Le tableau suivant montre les valeurs successives de la relation nucléoplasmique $100\,\frac{N}{P}$ aux trois températures étudiées :

Stade	10°	16°	22°
	Valeur du rapport $100\,\frac{N}{P}$		
1re Bipartition .	1,65	0,97	0,91
2e — . .	2,82	0,98	1,11
3e — . .	5,47	2,00	1,63
4e — . .	4,20	3,28	2,89
5e — . .	6,65	4,45	4,84
6e — . .	8,88	7,90	7,81
Blastula I.	17,56	12,25	8,01
Blastula II. . . .	20,00	11,91	7,81
Gastrula I.	11,85	12,16	10,15
Gastrula II. . . .	15,61	17,85	11,04

Donc le rapport $100\frac{N}{P}$ augmente continuellement jusqu'au stade gastrula tout au moins, et, pour un même stade, il est d'autant plus élevé que la température est plus basse ; ce résultat est identique à celui obtenu chez les Infusoires lorsqu'on se trouve au-dessous de l'optimum de température.

Nous pouvons résumer les faits qui demeurent bien établis à travers cet ensemble de résultats dans les propositions suivantes : 1° Pour une espèce cellulaire donnée, le rapport nucléoplasmique $\frac{N}{P}$ varie avec la température ; il s'élève quand la température s'abaisse ;

2° La vitesse de division diminue quand la température s'abaisse ;

3° La grandeur cellulaire augmente quand la température s'abaisse ;

4° La croissance cytoplasmique, la croissance nucléaire et la vitesse de division varient différemment pour une même variation de température, de sorte qu'à chaque température correspond une valeur spéciale du rapport $\frac{N}{P}$ et de la grandeur cellulaire.

Ces faits, démontrés par les expériences effectuées sur les Infusoires et sur les œufs d'Oursin en voie de segmentation, n'ont pas été retrouvés chez l'œuf d'*Ascaris* d'après A. Boring ; mais nous savons que cet œuf est extrêmement particulier. Par contre, ils ont été vérifiés par Chambers et par Hartmann (1918) chez les Batraciens en voie de développement; comme le fait remarquer Levi, il ne s'ensuit pas que les espèces d'animaux à sang froid vivant à basse température possèdent nécessairement des cellules plus grandes que les espèces vivant à température élevée.

6. **Action de la température. Analyse des résultats.** — Les expériences de Hertwig etde Driesch ont montré qu'une élévation de température accélère les processus du développement ; c'est ainsi qu'un œuf d'Oursin fécondé atteint le stade IV en 3 heures vers 24° ou en 5 h. 15 vers 14° ; du stade IV à la formation du mésenchyme primaire, on comptera de même 9 h. à 24° et 26 h. 30 à 14°.

Peter (1906) cherche à déterminer la valeur de cette variation de vitesse K qui est l'inverse du temps nécessaire pour passer d'un stade à un autre. On peut écrire, en désignant par t la température élevée et par t_o la température basse, l'expression suivante dans laquelle les vitesses de développement K sont évidemment dans le rapport inverse des durées θ.

$$Q_{(t-t_o)} = \frac{K_t}{K_{t_o}} = \frac{\theta_0}{\theta} = \frac{26,5}{9}$$

Il est commode de calculer ce rapport dans le cas ou $t = t_o + 10^o$, ce qui donne une valeur importante au point de vue comparatif ; c'est le coefficient de température Q_{10} défini par l'équation

$$Q_{10} = \frac{K_{t_o + 10^o}}{K_{t_o}}$$

Dans les conditions expérimentales, l'intervalle de deux températures étudiées n'est pas toujours égal à 10° ; on peut néanmoins calculer la valeur de Q_{10} de la manière suivante. Considérant K comme une vitesse de réaction, on applique la formule de Van't Hoff :

$$\log K = a + bt$$

t étant la température, a et b des constantes.

On a donc

$$Q_{10} = \frac{K_{t+10}}{K_t} = 10^{10b}$$

Dans les conditions d'une expérience où l'intervalle $t - t_0$ est quelconque, on trouve

$$Q_{t-t_o} = \frac{K_t}{K_{t_o}} = 10^{(t-t_o)\,b}$$

d'où l'on tire

$$Q_{10} = Q_{(t-t_o)}^{\frac{10}{t-t_o}}$$

Comme on a mesuré expérimentalement les *durées* θ_t et θ_{t_o} d'un développement, le calcul s'effectue sous la forme

$$\log Q_{10} = \frac{10}{t - t_o} (\log \theta_{t_o} - \log \theta_t).$$

Peter trouve que pour une même échelle de température, de 14° à 25° C par exemple, le coefficient de température Q_{10} varie très peu d'une espèce à l'autre en ce qui concerne les phénomènes de développement. Il trouve en effet d'après ses propres mesures et celles de O. Hertwig :

Sphaerechinus	$Q_{10} = 2,15$
Echinus	$Q_{10} = 2,13$
Grenouille	$Q_{10} = 2,26$

Par contre, ce coefficient varie avec l'échelle des températures uti-

lisées ; d'après les mesures de O. Hertwig sur la segmentation de l'œuf de Grenouille, on trouverait :

$$Q_{10} = 2,26 \text{ entre } 24^{o} \text{ et } 10^{o}$$
$$Q_{10} = 3,28 \text{ entre } 14^{o},5 \text{ et } 2^{o},5$$

Les chiffres de Loeb sur la segmentation de l'œuf d'Oursin donnent aussi toute une série de valeurs du coefficient de température (1).

Enfin le coefficient Q_{10} pris dans une même échelle de températures, peut varier avec le stade de développement ; on lui trouve par exemple les valeurs suivantes :

	Sphaerechinus	*Echinus*	*Rana*
Segmentation.....	2,29	2,3	2,23
Stades ultérieurs.....	2,03	2,08	3,34

Peter conclut que ces diverses valeurs du coefficient de température se groupent autour de valeurs moyennes comprises entre 2 et 3 ; le coefficient Q_{10}, qui caractérise les phénomènes de la segmentation, est donc de même ordre que celui qui caractérise les réactions chimiques (2).

L'intervalle de temps qui sépare deux divisions consécutives et qui est par conséquent nécessaire pour doubler la masse cellulaire, a été déterminé pour des températures différentes par plusieurs auteurs. Maupas (1888) en particulier a noté pour une série d'espèces d'Infusoires le nombre des bipartitions obtenues en 24 heures à des températures variées. Le tableau suivant donne le coefficient de température de la bipartition (ou de la croissance cellulaire) calculé pour divers Infusoires d'après des chiffres déjà publiés :

Auteurs	Espèce étudiée	Q_{10}	
Maupas.....	*Stylonychia postulata*.....	2,1	
	Onychodromus grandis....	2,36	
Woodruff et Baitsell.....	*Paramaecium aurelia*.....	2,41	(entre 24° et 28°)
Maupas.....	*Leucophrys patula*.....	2,43	
	Stylonychia mytilus.....	2,75	
	Euplotes patella.....	4,5	
Popoff.....	*Frontonia leucas*.....	4,03	
Rautmann.....	*Paramaecium caudatum*...	4,5	
Maupas.....	*Spathidium spatula*.....	5,6	

Les valeurs obtenues sont, on le voit, assez variables, et l'étude

(1) Loeb calcule la moyenne de ces diverses valeurs ; le chiffre obtenu n'a plus évidemment aucune signification.

(2) Voir Victor Henri (1912).

des courbes correspondant aux mesures de Maupas (fig. 14) permet de conclure que, chez les Infusoires comme chez les œufs de Grenouille ou d'Oursin, la valeur de Q_{10} augmente lorsqu'on la mesure entre les températures basses.

Les recherches sur la relation nucléoplasmique ont montré que

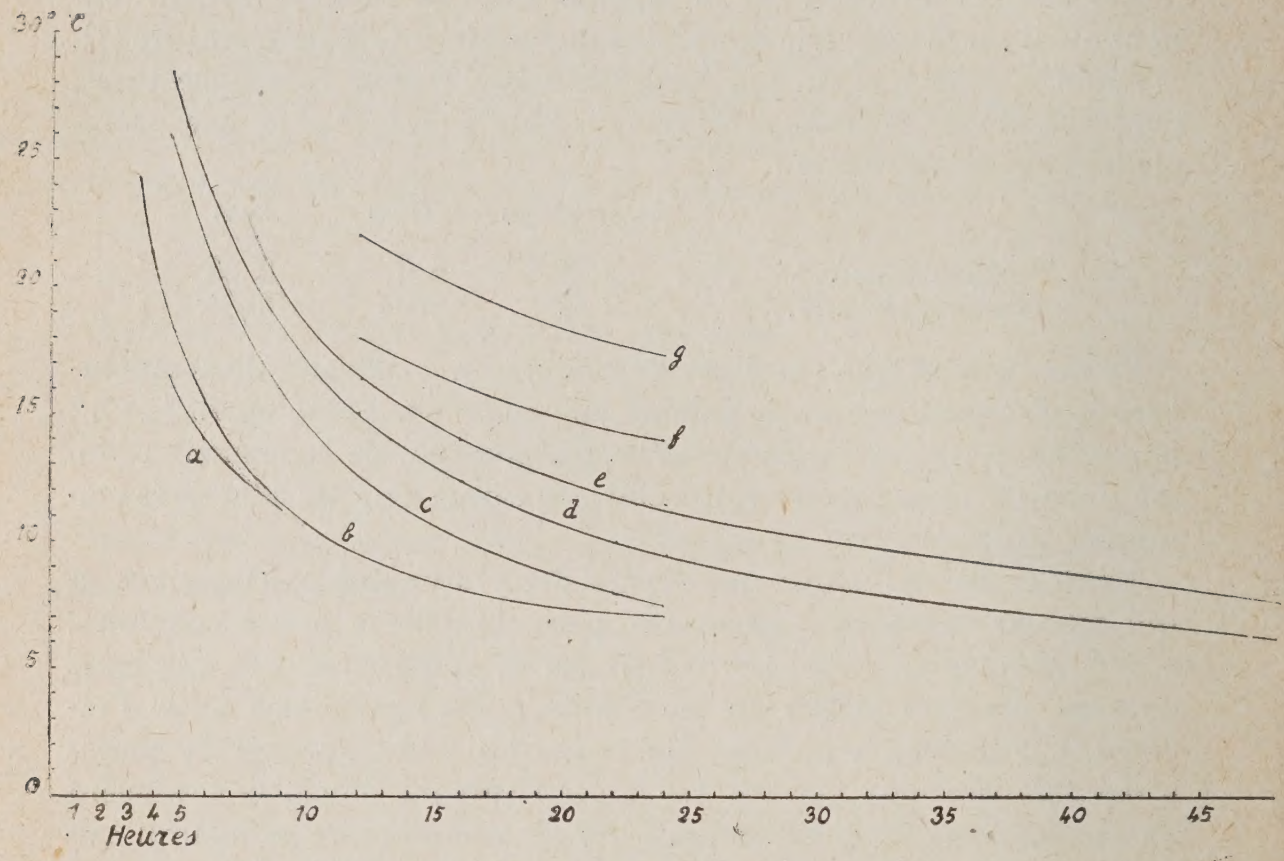


Fig. 14. — Variation de la vitesse de multiplication de quelques Infusoires en fonction de la température, d'après les chiffres de Maupas exprimant l'intervalle moyen entre deux divisions.

A. *Glaucoma scintillans.* — B. *Leucophrys patula.* — C. *Stylonychia pustulata.* — D. *Onychodromus grandis.* — E. *Stylonychia mytilus.* — F. *Spathidium spathula.* — G. *Euplotes patella.*

la croissance « fonctionnelle » et la croissance de « division » du noyau ont des valeurs très différentes. Ont-elles des coefficients de température différents ? Les données numériques de Popoff et de Rautmann sont assez précises pour que l'on puisse effectuer le calcul de ce coefficient.

Chez *Frontonia leucas* la croissance fonctionnelle, soit $N.(1+f)$, est lente et son coefficient de température, mesuré entre 14° et 25°, donne $Q_{10} = 4,7$.

Cette croissance nucléaire est liée à l'accroissement de la masse cytoplasmique. Si Vn et Vp désignent les volumes du noyau et du cytoplasma mesurés au même moment, et b le volume nucléaire

initial, les courbes de Popoff répondent assez bien à l'expression

$$Vn = \log\ Vp + b.$$

Cette formule exprime l'interdépendance nucléoplasmique qui est à la base de l'hypothèse de Hertwig.

La croissance de division, soit N $(1+f+b)$ est rapide chez *Frontonia* et son coefficient de température est $Q_{10} = 2{,}6$.

Les deux modes de croissance nucléaire ont des coefficients de température assez différents pour justifier l'hypothèse qu'ils relèvent l'un et l'autre de mécanismes différents.

Si nous étendons cette recherche à la croissance de la masse nucléaire totale pendant la segmentation, les chiffres de Koehler permettent de trouver $Q_{10} = 1{,}6$ pendant une première période qui s'étend suivant la température, jusqu'à la 3e ou la 6e bipartition chez *Strongylocentrotus lividus*. Les chiffres d'Erdmann donnent un coefficient voisin mais plus faible encore ; au delà de ces stades, les courbes figurées par ces auteurs présentent des irrégularités, puis s'entrecroisent de sorte que le coefficient de température devient négatif et voisin de —1,7, le volume nucléaire s'accroissant beaucoup plus à 10° qu'à 20° par exemple.

Mais Erdmann a tenté sur le même matériel de mesurer les chromosomes et d'estimer les variations de leur taille au cours de la segmentation ; W. Ostwald (1908) a calculé, d'après les chiffres obtenus, les valeurs successives de la masse totale des chromosomes et en a figuré la courbe de croissance. Au point de vue de l'action de la température, les trois premières divisions de segmentation ne donnent encore aucune indication précise ; ultérieurement et jusqu'aux stades comportant une centaine de blastomères, la vitesse de croissance de la masse chromosomique varie nettement avec la température et l'on trouve un coefficient positif $Q_{10} = 2{,}2$.

Les mesures deviennent si délicates au delà de ce stade que les résultats numériques ne peuvent être utilisés qu'avec une grande circonspection ; tout au plus peut-on retenir des valeurs calculées par Ostwald que Q_{10} ne change pas de signe et semble plutôt augmenter.

On voit ainsi, tout au contraire de ce qui caractérise l'accroissement du volume nucléaire total, que l'accroissement du volume total des chromosomes est toujours ralenti par l'abaissement de la température ; et ceci suggère que l'accroissement du volume nucléaire est fonction de deux phénomènes absolument distincts.

L'étude quantitative des variations volumétriques du cytoplasma et du noyau est sans doute particulièrement délicate en ce qui concerne la segmentation, puisque les erreurs de mesures sont multi-

pliées par le nombre élevé des cellules, et que ces mesures sont, en fait, toujours approximatives. On a vu que les mesures données pour un même objet et à une même température diffèrent suivant les observateurs.

Cependant, si la croissance de l'oocyte conduit bien cette cellule à une valeur anormale du rapport $\frac{N}{P}$, c'est-à-dire à l'état de « tension nucléoplasmique », et si la segmentation succède bien à cet état, on doit pouvoir établir des comparaisons plus étroites entre les phénomènes nucléaires de la division des Infusoires et de la segmentation de l'œuf.

Erdmann considère la croissance des chromosomes comme exprimant une véritable synthèse chimique, au sens admis par J. Loeb (1), et s'opposant en quelque sorte à l'accroissement volumétrique du noyau tout entier qui résulte d'échanges immédiats avec le cytoplasma, et qui relève peut-être en grande partie, comme le pense Hartmann (1918), de phénomènes physiques d'imbibition.

Cet accroissement des chromosomes pourrait être comparé à la croissance de division du macronucléus de l'Infusoire, les deux phénomènes ayant un coefficient de température positif et de valeurs très voisines : 2,2 et 2,6.

La croissance dite « fonctionnelle » du noyau de l'Infusoire devrait donc être comparable à la croissance de la vésicule germinative de l'oocyte de premier ordre pendant la vitellogenèse ; malheureusement il n'existe pas ici de mesures effectuées en fonction du temps.

De toute manière, l'accroissement volumétrique total des noyaux pendant la segmentation, avec son coefficient de température très faible ou négatif, peut être comparé à la croissance fonctionnelle du macronucléus de l'Infusoire.

Si l'on reprend les chiffres de Popoff sur *Frontonia*, on constate que le noyau s'accroît de 1 à 1,3 en 17 heures à 25°, et en 80 heures à 14° ; mais à 25° le volume initial relatif 1 est égal à 12,5, tandis qu'à 14° ce volume initial est égal à 20.

---

(1) Hovasse (1923) constate que la régulation du nombre des chromosomes chez des têtards de Grenouilles pathénogétiques s'effectue régulièrement à basse température (+ 4°), et incomplètement, ou pas du tout, à température élevée (21° — 23°) ; dans ce cas, les chromosomes sont de taille normale, mais leur nombre est souvent plus faible que le nombre haploïde et oscille entre 5 et 9 par exemple.

L'auteur suppose que la possibilité de la synthèse des nucléines (phénomène chimique), est subordonnée à un phénomène physique, la diffusion des phosphoprotéides cytoplasmiques et que les vitesses de ces deux phénomènes auraient des coefficients de température différents ; l'œuf de Grenouille serait normalement « réglé » sur les températures bassee et moyennes, et les températures élevées introduiraient une discordance. L'apparente contradiction des résultats de Hovasse et d'Erdmann ne peut être discutée dans l'état actuel de nos connaissances sur les nucléines et leur formation.

Pour deux Infusoires pris à 25° à l'état initial, l'accroissement nucléaire « fonctionnel » de l'un, maintenu à 25° C, sera de 12,5 à 16,25 entre deux divisions, tandis que le même accroissement sera, pour un autre Infusoire, transporté à 14° C, de 12,5 à 26,0 entre deux divisions.

L'augmentation de volume nucléaire à basse température est *indépendante du ralentissement* de la croissance « fonctionnelle », et si cette augmentation est tant soit peu rapide, on pourrait constater dans le cas supposé ci-dessus un croisement des deux courbes de croissance, celle à température basse s'élevant plus rapidement que celle à température élevée.

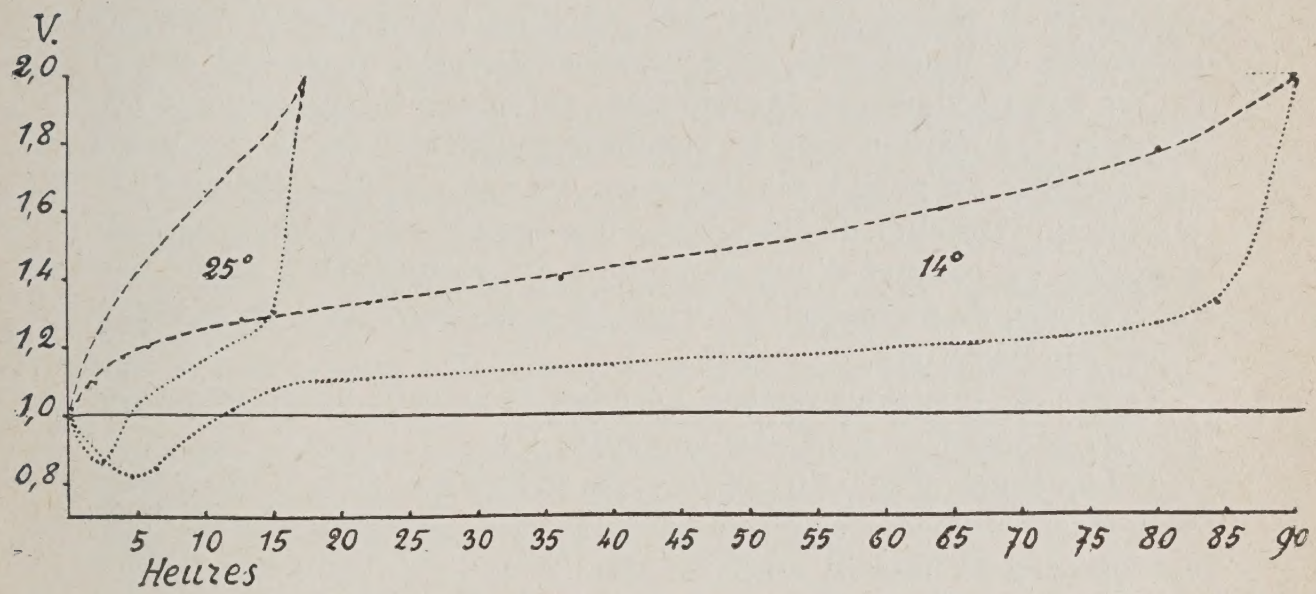


FIG. 15. — Variation du volume nucléaire et du volume cytoplasmique entre deux divisions et à deux températures différentes chez *Frontonia leucas*, d'après POPOFF. Les volumes initiaux sont ramenés à l'unité. La ligne supérieure (en tirets) représente la variation du volume cytoplasmique, et la ligne inférieure (en pointillé) représente la variation du volume nucléaire.

Dans ces conditions, le coefficient Q_{10} aurait de ce fait une valeur négative, comme on l'observe au cours de la segmentation de l'œuf de *Strongylocentrotus* pour l'accroissement volumétrique du noyau.

Les mesures d'ERDMANN et de KOEHLER montrent encore que, dès la première bipartition, le volume nucléaire est augmenté à basse température ou diminué à température élevée ; cette variation de volume est donc un phénomène rapide, capable de s'effectuer en un temps court, sous l'influence d'une variation de température.

OSTWALD remarque, à propos des recherches d'ERDMANN, que l'on ne peut considérer le contenu liquide du noyau comme une masse invariable et qu'il doit exister des échanges avec le cytoplasma. Il est possible que les pouvoirs d'imbibition propres du cytoplasma et du noyau soient différemment affectés par une variation de tempé-

rature, de sorte qu'un abaissement par exemple fasse passer de l'eau du cytoplasma vers le noyau ; nous avons déjà vu, à un point de vue en quelque sorte statique, que les variations de température modifient l'imbibition du cytoplasma en même temps que sa structure hétérogène : état de dispersion, relations réciproques des phases coexistantes, etc...

Hartmann insiste sur la complexité probable des phénomènes révélés par les déterminations du rapport $\frac{N}{P}$ et ses variations en fonction de la température ; en effet, si la loi d'action de masse et les équilibres de phases peuvent être invoqués à l'égard des réactions réversibles et limitées du type cytoplasma $\rightleftarrows$ noyau, on doit encore songer aux phénomènes d'imbibition, de solubilité spécifique, d'adsorption (adsorption par la membrane nucléaire ou la charpente chromatique du noyau des nucléines ou des colloïdes abaissant la tension superficielle), de dissociation (en considérant les forces électrostatiques au contact d'une membrane semi-perméable), de tension superficielle, de perméabilité *variable avec la température* de la membrane nucléaire, etc.

Toutes ces questions restent à étudier et nous ne pourrons retenir que les conclusions générales suivantes :

1° Le volume absolu du noyau varie en fonction de la température, et indépendamment des phénomènes de croissance proprement dits ; ces variations semblent assez rapides ; elles s'effectuent aux dépens de la masse cytoplasmique, de sorte que le volume relatif du noyau et le rapport $\frac{N}{P}$ varient en même temps.

2° Il est possible que ces variations du volume nucléaire absolu dont le coefficient de température est négatif, soient l'expression de phénomènes physiques : imbibition, perméabilité, etc. ;

3° Pendant la croissance normale d'un Infusoire, entre deux bipartitions, la croissance nucléaire finale est la somme de deux accroissements distincts caractérisés par des coefficients de température différents : la croissance fonctionnelle et la croissance de division ;

4° La « croissance de division » chez un Infusoire, et la croissance de la masse totale des chromosomes pendant la segmentation de l'œuf d'Oursin, ont un même coefficient de température, dont l'ordre de grandeur est caractéristique des réactions chimiques. Ces accroissements correspondraient peut-être à l'accroissement des substances propres du noyau, c'est-à-dire à une synthèse des nucléines suivant l'hypothèse de Loeb.

En dehors du cas très spécial de la segmentation, cette *croissance proprement dite est un phénomène discontinu* ;

5° La croissance « fonctionnelle » chez les Infusoires est liée à la croissance cytoplasmique sous une forme telle que l'on ait en première approximation :

$$Vn = \log Vp + Vn_0 \text{ (voir page 99).}$$

La variation du rapport $\frac{N}{P}$ est donc, pendant cette croissance, un *phénomène continu*, mais *interrompu* par la croissance de division ;

6° Dans l'idée de Hertwig et de ses collaborateurs, la tension nucléoplasmique déclanche les phénomènes particuliers de la croissance de division ; cette supposition demeure une hypothèse que nous devrons reprendre en étudiant les changements d'états cellulaires qui accompagnent la division. Conklin (1912) cependant, considère cette hypothèse comme inutile ; les phénomènes de la division peuvent dépendre en effet de la coïncidence des rythmes centrosomiques, chromosomiques et cytoplasmiques qui sont en rapport sans nul doute avec le taux et la nature du métabolisme cellulaire ; mais cela veut dire qu'il existe un équilibre actuellement indéterminé entre les activités nucléaires et cytoplasmiques, et que cet équilibre, en réglant le moment de la division au cours des phénomènes généraux d'accroissement, règle également la taille de la cellule.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

Amelung, 1893. Inaugural Dissert. (Würtzbourg).

Athias, 1904. *La celula nervosa* (Lisbonne).

Balbiani, 1892. Recherches expérimentales sur la Mérotomie des Infusoires ciliés (*Rec. Zool. Suisse*, vol. V, p. 1 ; *Ann. de Microg.*, vol. IV).

Berezowski, 1910. Studien über die Zellgrösse (*Arch. f. Zellforschung*, Bd. V, p. 375).

Bizzozero et Vassale, 1887. Sulla produzione e sulla rigenerazione fisiologica degli elementi ghiandolari (*Archivio per le Scienze Medice.*, t. XI, p. 195, 254).

Bizzozero et Vassale, 1894. Accrescimento e Rigenerazione nell' organismo. (*Archivio per le Scienze Medice.*, vol. XVIII, p. 245, 287).

Boring A., 1909. On the effect of different temperatures on the size of the nuclei (*Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XXVIII, p. 118).

Boveri, 1895. Ueber die Befruchtungs und Entwicklungs Fähigkeit kernloser Seeigeleier und über die Möglichkeit ihrer Bastardierung (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XI).

Boveri, 1905. Zellen Studien. Heft V : Ueber die Abhändigkeit der Kerngrösse

und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangzellen (*Jenaische Zeitschr. f. Natur.*, Bd. XXXIX).

Brachet, 1904. Recherches expérimentales sur l'œuf de *Rana fusca* (*Arch. de Biol.*, t. XXI).

Brachet, 1910. La polyspermie expérimentale comme méthode d'analyse de la fécondation (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXX).

Brachet, 1910. Recherches sur l'influence de la polyspermie expérimentale dans le développement de l'œuf de *Rana fusca* (*Arch. de Zool. exp. et gén.* 5e série, t. VI).

Burian und Schur, 1897. Ueber Nükleinbildung im Säugetierorganismus (*Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, Bd. XXIII, p. 55).

Calkins, 1902. The life cycle of *Paramaecium caudatum* (*Arch. f. Ent. Mek.*, Bd. XV).

Calkins, 1911. Regeneration and cell division in *Uronychia* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. X, p. 95).

Calkins, 1911. Effects produced by cutting *Paramaecium* cells (*Biol. Bull.*, vol. XXI, p. 36).

Calkins, 1921. Effects of cutting during conjugation (*Journ. of Exp. Zool.*, vol. XXXIV, nº 3).

Chambers, 1908. Einfluss der Eigr¨sse und der Temperatur auf das Wachstum und Grösse des Frosches und dessen Zellen (*Arch f. mikr. Anat.*, Bd. LXXII, p. 607).

Conklin, 1896. Cell size and Body size (*Science*, N. S., vol. III).

Conklin, 1912. Cell size and Nuclear size (*Journ. of Exp. Zool.*, vol. XII, p. 498).

Conklin, 1912. Cell size and Body size (*Journ. of Morph.*, vol. XXIII).

Czapek, 1923. Physikochemische Probleme der Protoplasmaforschung (*Die Naturwissenschaften*, Bd. XI, p. 43, 237).

D'Arcy Thompson, 1917. *Growth and form* (Cambridge University Press).

Doflein, 1916. *Lehrbuch der Protozoenkunde* (Jena).

Driesch, 1893. Entwicklungsmechanische Studien (III. IV. *Zeitschr. f. wiss Zool.*, Bd. LV, p. 9).

Dreisch, 1898. Von der Beendigung morphogener Elementarprocesse (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. VI, p. 198).

Dufrenoy, 1922. Gigantisme et nanisme dans le règne végétal (*Bull. Soc. Path. comparée*, 22e année, nº 218, p. 554).

Enriques, 1907, 1908. La forma come funzione della grandezza : Ricerche sui gangli nevosi degli Invertebrati (*Arch. für Entw. Mech.*, Bd. XXV, p. 655).

Enriques, 1912. *La teoria cellulare.* (Bologne, Zanichelli, édit.).

Enriques, 1914. La formazione di sostanza nucleare nello sviluppo. Studio biometrico sull' *Aplysia limacina Bios*, vol. II, p. 183.

Erdmann (R.), 1909. Experimentelle Untersuchung der Massenverhaltnisse von Plasma, Kern und Chromosomen in dem sich entwicklenden Seeigelei (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. II, p. 76).

Erdmann (R.), 1911. Quantitative analyse der Zellbestandteile bei normalen, experimentell verändertem und pathologischen Wachstum (*Ergeb. der Anat. u. Entw.*, Bd. XX, p. 471).

Fauré-Fremiet, 1913. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Anat. Micr.*, t. XV, p. 435).

Gerassimow, 1902. Die Abhnädigkeit der Grösse der Zelle von der Menge d. Kernmasse (*Zeitschr. f. Allg. Phys.*, Bd. I, H. 3).

Gerassimow, 1904. Ueber die Grösse des Zellkerns (*Botanisches Zentralblatt*, Bd. XVIII, Abt. 1, H. 1).

Gerassimow, 1905. A Thermoculturen v. *Spirogyra* (*Allg. Bot. Zeit.*, Bd. XCIV, H. 1).

Godlewski. 1908. Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch

äussere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXVI, p. 278).

Godlewski, 1910. Plasma und Kernsubstanz im Epithelgewebe bei der Regeneration der Amphibien (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXX, abt. II, p. 81).

Goldsmidt, 1908. Das Nervensystem von *Ascaris lumbricoides* und *megalocephala* (*Zeitschr. f. wiss. Zool.* I, Bd. XC ; II, Bd. LII ; *Fetschr. f. Hertwig.*, III, Bd. XI).

Gruzewska et Fauré-Fremiet, 1922. La localisation du glycogène dans le foie et les muscles des chiens nourris en vue de la production maximale de cette réserve (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXIII, p. 254).

Guieysse (A.), 1907. Etude des organes digestifs chez les Crustacés (*Arch. Anat-Microsc.*, t. IX).

Hartmann, 1918. Ueber den Einfluss der Temperatur auf Plasma, Kern und Nucleolus und Cytologische gleichgewichtszustande (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. XV).

Heiberg, 1907. Ueber eine eröhte Grosse der Zellen und deren Teile bei dem ausgewachsenen Organismus vierglichen mit dem noch nicht ausgewachsenen (*Anat. Anz.*, Bd. XXX, p. 306).

Henri (V.), 1912. Coefficients thermiques comparés de processus physiques, chimiques, biochimiques et physiologiques (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, p. 1084).

Herlitzka, 1897. Sullo sviluppo di embrioni completi da blastomeri isolati (*Arch. f. Ent. Mek.*, Bd. IV).

Herlitzka, 1898. Ricerche sulla differenziazione cellulare nello sviluppo embryonele (*Arch. f. Ent. Mek.*, Bd. VI, p. 45).

Herlitzka, 1898. Sullo sviluppo di embrioni completi da blastomeri isolati di uova di Tritone (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. IV).

Herlant (M.), 1911. Recherches sur les œufs di et trispermiques de Grenouille (*Arch. de Biol.*, t. XXVI, p. 103).

Hertwig (Oscar), 1898. Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung von *Rana fusca* und *Rana esculenta* (*Arch. f. Mikr. Anat.*, t. LI).

Hertwig (Richard), 1903. Ueber Korrelation von Zell und Kerngrosse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle (*Biol. Zentralb.*, Bd. XXIII, p. 49, 108).

Hertwig (R.), 1903. *Wechselverhältniss von Kern und Protoplasma* (Münich, chez Lehmann).

Hertwig (R.), 1907. Ueber neue Probleme der Zellenlehre (*Arch. f. Zellforsch.*, I, *Heft.* I., p. 1, 32).

Hofer, 1890. *Experimentelle Untersuchungen uber den Einfluss des Kerns auf das Protoplasma.*

Hovasse, 1923. Action de la température sur la régulation du nombre des chromosomes chez les embryons parthénogénétiques de *Rana temporia*. (*C. R. de l'Assoc. des anatomistes*, 18e *réunion, Lyon* 1923, p. 253).

Illing, 1905. Vergleichende Histologische Untersuchungen über die Leber der. Haussaugetiere (*Anat. Anz.*, Bd. XXVI, p. 177).

Jennings and Moore, 1902. Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms VIII. On the reactions of Infusoire to carbonic and other acids with especial reference to the causes of the gatherings spontaneously formed (*Amer. Journ. of Physiol.*, vol. VI, p. 233).

Jennings (H. S.), 1908. Heredity, variation and evolution in Protozoa. I. The fate of new structural characters in *Paramaecium*, etc. (*Journ. Exp. Zool.*, vol. V).

Jennings (H. S.), 1908. II. Heredity and variation of size and form in *Paramaecium*, etc. (*Proc. Amer. Philos. Soc.*, vol. XLVII).

Jennings (H. S.), 1909. Diverse races of *Paramaecium* and their relation to selection and to conjugation (*Amer. Soc. Zool. Science.*, N. S., vol. XXIX).

Jennings (H. S.), and Hargitt, 1910. Characteristics of the diverse races of *Paramaecium* (*Journ. of Morph.*, vol. XXI, nº 4, p. 496, 561).

Johnson, 1893. Contribution to the morphology and biology of the Stentors (*Journ. of Morph.*, vol. VIII, p. 457).

Kasanzeff, 1901. Experimentelle Untersuchungen uber *Paramaecium caudatum* (*Inaugural Dissert*, Zürich).

Koehler (O.), 1912. Ueber die Abhängigkeit der Kernplasmarelation von der-Temperatur und vom Reifezustand der Eier (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. VIII, p. 272).

Le Breton et Schaeffer, 1923. Variations biochimiques du rapport nucléoplasmique au cours du développement embryonnaire (*Fac. Méd. Strasbourg, Trav. Inst. Phys.*).

Levi (G.), 1905. Vergleichende Untersuchungen über die Grösse der Zellen (*Anat. Geselsch*, 9e réunion, Genève).

Levi (G.), 1906. Studi sulla grandezza delle cellule. I. Ricerche comparative sulla grandezza delle cellule di Mammiferi (*Archivio di Anat. e di Embr.*, t. V, fasc. 2, p. 292, 358).

Levi (G.) e Terni, 1911. Le variazioni dell' indice plasmatico-nucleare durante l'intercinesi (*Arch. Ital. di Anat.*, t. X, p. 545).

Levi (G.), 1914. Studii sulla grandezza delle cellule. III. Le modificazioni della grandezza cellulare e nucleare e dell' indice plasmatido nucleare i piu precoci periodi dell' ontogenesi dei Mammiferi (*Ricerche di Biol.* dedicate al Prof. A. Lustig, Firenze).

Levi (G.), 1919. Nuovi studii sull' accressimento delle cellule nervose (*Atti della Reale Accad. di Scienze di Parlemo.*, vol. XI).

Levi (G.), 1921. Per la migliore conoscenza del fondamento anatomico e dei fattori morphogenetici della grandezza del corpo (*Arch. Ital. di Anat. e di Embryol.*, vol. XVIII).

Lillie, 1896-1897. On the smallest parts of Stentor capable of Regeneration (*Journ. of Morph.*, vol. XII, p. 239).

Lillie, 1902. On the oxidative properties of the cell-nucleus (*Amer. Journ. Phys.*, vol. VII).

Loeb (J.), 1894. On the limits of divisibility of living matter (*Biol. Lectures of M. Biol. Lab. et Arch. f. Ges. Phys. von Pflüger.*, Bd. LIX).

Loeb (J.), 1908. Ueber den chemischen Charakter des Befruchstungsvorgangs und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen (Leipsig).

Loeb (J.), 1909. *Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies* (Berlin).

Loeb (J.), 1910. Ueber den autokatalischen Charakter der Kernsynthese (bei der Entwicklung (*Biol. Zentral.*, Bd. XXX).

Maige (A.), 1923. Croissance du noyau aux diverses températures en présence de sucre chez le Haricot (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, nº 7, p. 530).

Maige (A.), 1923. Influence de la température sur la décroissance par inanition du noyau chez le Haricot (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, nº 2, p. 97).

Marcus, 1906. Ueber die Wirkung der Temperatur auf die Furchung bei Seeigeleiern (*Arch. f. Entw. Mech.*, Bd. XXII, p. 445).

Martini, 1905-1097-1908. Ueber Subcuticula und Seitenfelder einiger Nematoden (*Zeitschr. f. wiss. Zool.*, I, Bd. LXXXI, 1905 ; II, Bd. LXXXVI, 1907 ; III, Bd. XCI, 1908 ; p. 191).

Masing, 1910. Ueber das Verhalten der Nucleinsäure bei der Furchung des Seeigeeies (*Hoppe seyler's Zeitschr.*, Bd. LXVII, et *Review by Godlewski. Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXI).

Maupas, 1881. Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés (*Arch. de Zool. Exp.*, 2e sér., t. VI, p. 165).

Mayer et Schaeffer ,1908. Sur la structure des gels. Applications à l'étude de la

constitution du protoplasma animal et des liquides de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, avril, p. 681).

Morgan, 1895. Studies of the Partial Larvae of *Sphærechinus* (*Arch. für Ent. Mech.*, Bd. XI).

Morgan, 1903. Regeneration of proportionate structure in Stentor (*Biol. Bull.*, t. II, p. 311).

Morpurgo e Tirelli, 1892. Sullo sviluppo dei gangli intervertebrali del Coniglio (*Annali di Fren. e Scienze aff. Torino et Arch. ital. de Biol.*, t. XVIII, p. 414).

Morpugo, 1898. Sur l'hypertrophie fonctionnelle des muscles volontaires (*Arch. ital. de Biol.*, t. XXIX, p. 65).

Noel, 1923. Recherches histo-physiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères (*Arch. Anat Micr.*, t. XIX).

Oswald, 1908. Ueber die zeitlichen eigenschaften der Entwicklungsvorgange (*Vorträge und Aufsatze über Ent. Mck.* Heft V).

Paladino, 1914. Les cellules nerveuses sont-elles des éléments perpétuels de l'organisme et le pouvoir germinatif de l'épendyme est-il limité à la période embryonnaire ? (*Arch. Ital. de Biol.*, t. LXI, p. 443-450).

Peter, 1905. Der Grad der Beschleunigung tierischer Entwicklung durch erhöhte Temperatur (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XX, p. 130, 154).

Pflüger, 1878. Ueber Wärme und Oxydation der lebendigen Materie (*Pflüger's Arch.*, Bd. XVIII, p. 247, 380).

Plenk, 1911. Ueber Aenderungen der Zellgrösse im Zusammenhang mit dem Körperwachstum der Thiere (*Arb. Zool. Inst. Wien*, Bd. XI, p. 247).

Popoff, 1908. Ueber den Einfluss chemischer Reagentien auf den Funktionszustand der Zelle (*S. B. Gesells. f. Morph. u. Physiol. München.*, Bd. XXV, p. 55).

Popoff, 1909. Experimentelle Zellstudien. III. Ueber einige Ursachen der Physiologischen Depression der Zelle (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. IV, p. 1).

Przibram, 1908. Anwendung elementarer mathematik auf biologische Probleme (*Vorträge uber Entw. Mech. der Org.* Heft III).

Rabl (Carl), 1900. Ueber den Bau und die Entwicklung der Linse. III. Die Linse der Saugetiere. Rückblick und Schluss (*Zeit. f. wiss. Zool.*, Bd. LXXVII).

Rautmann, 1909. Der Einfluss der Temperatur auf das Grössenverhältniss des Protoplasmaskörpers zum Kern (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. XI, p. 44).

Reusch (B.), 1923. Ueber die Ursachen von Riesen-und zwergwuchs beim Haushun (*Zeitschr. f. Indukt. abst. u. Verersbungslehre*, Bd. XXXI, p. 268).

Schackell, 1911. Phosphorus metabolism during early cleavage of the Echinoderm egg (*Science*, vol. XXIV, n° 878).

Sokoloff, 1913. Contribution au problème de la régénération des Protozoaires. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 299).

Sokoloff, 1921. Contribution au problème de la vitalité des organismes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 1100).

Sokoloff, 1922. Relations entre le noyau et le cytoplasme dans la cellule maligne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, n° 37, p. 1200).

Sokoloff, 1922. Le noyau est-il indispensable à la régénération des Protozoaires? (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 1140).

Sokoloff, 1923. Études sur la Biologie des Protozoaires. (*Arch. de Biologie.* t. XXXIII, p. 431-492.)

Sorokina, 1913. Ueber Synchronismus der Zellteilung (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. 35, H. 1, p. 30, 45).

Stevens, 1903. Notes on regeneration in *Stentor coeruleus* (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XVI, p. 461).

Terni (Tullio), 1919. Sulla correlazione fra ampiezza del territorio di innervazione

e grandezza delle cellule gangliari. II. Ricerche sui gangli spinali che innervano la coda rigenerata nei Sauri (*Arch. Ital. di Anat. e di Embr.*, vol. XVII, fasc. 4).

Unna, 1894. *Die Histopathologie der Hautkrankheiten.*

Verworn, 1888. Biologische Protistenstudien (*Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. XLVI, p. 455).

Wallengren, 1902. Inanitionserscheinungen der Zelle. Untersuchungen an Protozoen (*Zeitschr. f. All. Physiol.*, Bd. I).

Wilson, 1900. *The cell in development and Inheritance.*

Zoja, 1895. Sullo sviluppo dei blastomeri isolati dalle uova di alcune Meduse. (e di altri organismi) (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XI).

Zur Strassen, 1898. Ueber die Riesenbildung bei Ascariseneiern (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. VII).

CHAPITRE III

Les Changements d'état du système cellulaire au cours de la division

1. **Phénomènes nucléaires de la division.** — On a vu, dans le précédent chapitre, que l'accroissement volumétrique du noyau entre deux divisions cellulaires semble correspondre à deux phénomènes distincts, différant nettement par leurs coefficients de température Ce seraient :

a) une synthèse chimique, c'est-à-dire un accroissement proprement dit des substances nucléaires ;

b) un phénomène physique d'imbibition s'accroissant aux basses températures.

Ces deux phénomènes, qui semblent généralement discontinus l'un et l'autre, se succèdent-ils toujours dans le même ordre par rapport au stade final de bipartition ? Pendant les divisions de segmentation, qui se succèdent avec rapidité, ils semblent être concomitants et l'on ne peut les dissocier qu'en faisant varier la température ; le phénomène *a* se traduit par l'accroissement propre de la masse des chromosomes (Erdmann) et le phénomène *b* par la variation du volume nucléaire total.

Chez les Infusoires, l'interprétation des données numériques de Popoff et de Rautmann nous a fait supposer que, en ce qui concerne le noyau, la « croissance de division » correspond à la croissance des chromosomes de l'exemple précédent et représente comme elle le phénomène *a*, synthèse chimique dont le coefficient Q_{10} est un peu supérieur à 2. La « croissance fonctionnelle » dont l'expression volumétrique semble liée à la croissance du cytoplasma (pour une température donnée) par l'expression $Vn = \log Vp + Vn_0$ représenterait le phénomène *b*, c'est-à-dire une imbibition de la masse nucléaire proportionnelle à la masse cytoplasmique, dont le coefficient de température peut être très faible ou négatif.

Della Valle (1912) admet une interprétation opposée dans sa remarquable étude sur la division mitotique. On sait que d'une manière absolument générale, au début de la karyokinèse, le noyau se gonfle plus ou moins fortement; c'est le « gonflement prophasique »

particulièrement marqué dans la division des érythrocytes nucléés des Batraciens décrite par JOLLY, et dans celle des leucocytes, ou encore des cellules mucipares.

Pour DELLA VALLE, la masse des substances caractéristiques du noyau, des nucléines, s'accroît lentement pendant la croissance « fonctionnelle », et le *gonflement prophasique* correspondrait à la croissance « de division » mais serait un phénomène purement physique.

Nos connaissances sur la chimie du noyau ne sont pas assez développées pour que la comparaison des phases du cycle d'un macronucléus d'Infusoire ou d'un noyau cellulaire à division mitotique puisse être utilement discutée, et nous émettrons seulement quelques doutes au sujet d'une homologie entre la « croissance de division » et le « gonflement prophasique » ; celui-ci, en effet, augmente le volume nucléaire de plus du double de sa valeur initiale.

DELLA VALLE résume de la manière suivante les *effets* du gonflement prophasique :

1° Avant ce gonflement, le contenu nucléaire est homogène (sauf la présence des nucléoles), et de nature colloïdale; c'est l'état que nous avons décrit dans le premier chapitre d'après un grand nombre d'observations et d'expériences (1) ;

2° Pendant le gonflement prophasique, le filament chromatique caractéristique du stade spirème se constitue *à la surface du noyau*, et ses boucles sont réparties à distance sensiblement égale les unes des autres ;

3° Les chromosomes se forment, toujours à la surface du noyau, par rupture du filament chromatique formant le spirème ;

4° Le noyau cesse d'exister comme tel au moment de la formation des chromosomes ;

5° Les chromosomes prophasiques ont une structure hélicoïde d'ailleurs variable.

Pour DELLA VALLE, le phénomène essentiel est le gonflement et celui-ci résulte d'une rapide absorption d'eau, d'une augmentation brusque du taux de l'imbibition nucléaire. Diverses hypothèses peuvent être envisagées à ce sujet : la pression osmotique intranucléaire pourrait augmenter (d'où la pénétration de liquides cytoplasmiques à la suite d'une transformation chimique amenant la scission de grosses molécules) ; ou bien un changement d'état physique des colloïdes nucléaires pourrait accroître leur pouvoir d'imbibition, ce phénomène étant d'ailleurs complexe (2) ; d'après LILLIE, la perméa-

(1) DELLA VALLE s'appuie à juste titre sur cet état du noyau au repos pour critiquer la théorie de la « permanence des chromosomes ».

(2) Voir à ce sujet J. DUCLAUX, *Les Colloïdes* (3e édit., Paris 1925).

bilité de la membrane nucléaire pourrait varier ainsi que les charges électriques en présence dans le noyau et le cytoplasma, etc ; mais, de toute manière, suivant Della Valle, cette absorption d'eau *diminue le degré de dispersion de la chromatine, qui se sépare du suc nucléaire en formant une phase distincte* : le cordon chromatique du stade spirème.

Il faut alors se rappeler qu'une substance qui abaisse la tension superficielle d'un liquide s'accumule à la surface de celui-ci, et que la phase dispersée d'une solution colloïdale se concentre à la surface de séparation de cette solution et d'un autre liquide non miscible ; or, la séparation du cordon chromatique débute à la surface du noyau, et Boveri admet une proportionnalité entre la surface nucléaire et le nombre des chromosomes.

Della Valle remarque maintenant :

1° Que le gonflement prophasique représente une augmentation de la surface nucléaire, *mais aussi un commencement de dissolution du gel nucléaire* ;

2° Que la modification caractéristique du système chromatine + caryoplasma, à la prophase, est un phénomène *de séparation* ;

3° Que, entre la prophase et l'anaphase, les chromosomes sont directement immergés dans le cytoplasma.

Cela suppose :

a) que le caryoplasma homogène du noyau au repos forme une phase distincte du cytoplasma « intercinétique » (1) et se trouve en équilibre avec celui-ci, tandis qu'il se mélange avec le cytoplasma « mitotique » ;

b) que la chromatine forme avec le caryoplasma « intercinétique » une phase unique, tandis qu'elle se sépare du caryoplasma mitotique en formant une phase distincte ;

c) que, après la prophase, la chromatine persiste sous la forme d'une phase distincte du cytoplasma « mitotique » dans lequel elle se trouve immergée (chromosomes).

Il est possible de rendre compte des faits ainsi schématisés en admettant dans la cellule quatre constituants qui seront :

A) Le cytoplasma (milieu de dispersion + phase dispersée).

B) Le caryoplasma ou milieu de dispersion nucléaire.

C) La chromatine ou phase nucléaire dispersée.

D) Un facteur variable x.

Ces constituants présenteront entre eux les miscibilités suivantes :

(1) Séparée de celui-ci par une membrane de précipitation.

A est partiellement miscible avec *C* et avec *B* tandis qu'il est entièrement miscible avec le facteur variant *D*.

B est partiellement miscible avec *A*, et entièrement miscible avec *C* et avec le facteur *D*.

C est partiellement miscible avec *A* et avec le facteur *D*, et complètement miscible avec *B*.

Enfin le facteur *D* n'est que partiellement miscible avec *C* tandis qu'il est miscible en toute proportion avec *A* et *B*.

Il suffit évidemment que la masse du facteur *D*, admis par hypothèse, augmente dans le cytoplasma, pour que toutes les relations de miscibilité réciproque se trouvent modifiées : en effet ce corps indéterminé diffusera aussi bien dans le cytoplasma que dans le caryoplasma, qui de ce fait deviendront miscibles l'un à l'autre ; mais la chromatine, qui n'est miscible ni au cytoplasma ni au facteur variant *D* se séparera aussitôt.

Della Valle illustre cette ingénieuse hypothèse par trois exemples concrets dans lesquels une substance *C* soluble dans un liquide *B* constituant une phase distincte du liquide *A*, se précipitera ou se cristallisera lorsque par addition d'alcool (facteur variant *D*) les deux liquides *A* et *B* se seront mélangés ; tels sont les systèmes :

A	B	C	D
Ether	Eau	Gomme arabique	Alcool
Eau	Xylol	Paraffine	Alcool
Benzène	Eau	Alun de potasse	Alcool

La formation du filament chromatique et des chromosomes serait donc un phénomène de précipitation, ou de *cristallisation* ; Della Valle trouve même dans la torsion des chromosones prophasiques une présomption en faveur de cette hypothèse, car cette torsion s'expliquerait assez bien par l'accolement de cristaux liquides ou tout au moins de cristaux mous *dissymétriques*. Il rappelle les travaux de Gaubert sur certains édifices cristallins du même ordre, et admet que la tension superficielle permettrait tout d'abord l'accolement mais non pas le fusionnement de ces cristaux.

Les caractères physiques des chromosomes s'accordent-ils avec ces interprétations ? On sait que, dans un « dispersoïde, » il peut exister un rapport défini entre la surface de la phase dispersée et le milieu de dispersion, de telle sorte que le nombre des particules soit, toutes choses égales par ailleurs, proportionnel au volume total.

Pour un système donné, caryoplasma + chromatine, le nombre des particules (chromosomes) doit être proportionnel au volume nucléaire, et, si celui-ci est constant, le nombre des particules doit être constant. A la vérité, cette idée a été critiquée par Enriquez, en ce qui concerne

son extension au nombre des chromosomes, d'après le cas de l'*Ascaris* dont les cellules de segmentation montrent soit de gros noyaux avec 2 ou 4 chromosomes, soit de petits noyaux avec un très grand nombre de chromosomes pulvérulents. Mais la diminution chromatique fera toujours de l'exemple de ce Nématode un cas particulier.

La grandeur des chromosomes considérés comme des cristaux liquides doit dépendre de facteurs physiques ; d'après les travaux de Lehmann, c'est la tension superficielle qui intervient dans ce cas nouveau (1) pour limiter la taille des cristaux. Leur nombre est le quotient de la quantité de chromatine par la masse d'un chromosome, et, d'après les remarques précédentes, ce nombre doit être sensiblement constant pour des noyaux de volume approximativement constant. Della Valle a fait d'ailleurs de nombreuses mesures et de nombreuses mensurations qui lui ont permis d'établir les courbes de variabilité du nombre et de la grandeur des chromosomes ; les courbes relatives aux cellules de Salamandre, chez lesquelles les mesures sont faciles, sont particulièrement démonstratives (2).

Une objection, fondée sur les variations, démontrées par Erdmann, du rapport nucléo-chromosomique en fonction de la température, pourrait être faite à cette hypothèse, car le volume nucléaire peut changer sans que le nombre des chromosomes varie.

En dehors de leurs dimensions et de leur nombre relativement constants, les chromosomes sont encore caractérisés par leur réfringence, leur opacité en lumière ultra-violette (Koehler 1904), leur isotropie en lumière polarisée ; Della Valle examine toutes ces propriétés suivant l'hypothèse des cristaux liquides et montre qu'elles peuvent s'accorder avec elle (3) ; il discute également les expériences de Mac Clendon, de Lillie et de Pentimali sur la charge électrique des chromosomes (voir plus loin page 157).

Entre la prophase et la métaphase, les chromosomes subissent des modifications importantes : la torsion disparaît, et l'on observe un

(1) On sait que Eötvos a trouvé une relation entre le poids moléculaire et la tension superficielle ; or, on constate fréquemment chez des espèces animales *voisines*, que les nombres moyens des chromosomes sont entre eux dans des rapports simples, tels que de 1 à 2 ou de 2 à 3, etc. Della Valle se demande si la chromatine n'existerait pas sous la forme de composés chimiques différant uniquement dans ce cas par leur degré de polymérisation.

(2) Meves (1911) a vérifié sur les spermatogonies, les spermatocytes et les cellules somatiques de la Salamandre, que les chromosomes formés dans un même noyau diffèrent entre eux par la taille et peuvent être rangés en série. Guyenot (1924) a critiqué, sans aucune base expérimentale cependant, les conclusions de Della Valle sur la variabilité du nombre des chromosomes.

(3) Beaucoup de « cristalloïdes » de nature albuminoïde perdent leur biréfringence après gonflement par l'eau.

raccourcissement notable; examiné sur une cellule vivante, ce raccourcissement paraît brusque ; ces deux phénomènes exprimeraient un réarrangement des cristaux liquides. Della Valle considère les chromosomes comme anisotropes au point de vue de la viscosité interne à cause de leur structure cristalline. La vitesse du raccourcissement est directement proportionnelle à la tension superficielle au contact du milieu ambiant et des chromosomes, et inversement proportionnelle à la viscosité *longitudinale* de ces éléments ; il serait même possible de calculer ces valeurs en connaissant cette vitesse.

D'autre part, le raccourcissement est proportionnel à la longueur initiale des chromosomes, ce qui signifie que sa valeur est constante par rapport à l'unité de longueur. Les nombreuses mesures qui vérifient ce fait démontrent l'identité de composition de tous les chromosomes appartenant à un même noyau (1).

La division longitudinale des chromosomes s'expliquerait, comme dans le cas de certains cristaux liquides, par l'existence d'un plan de moindre viscosité.

Les différentes transformations nucléaires que Della Valle cherche à relier par un schéma physique se reproduisent en ordre inverse, pendant la télophase ; le cycle mitotique est donc réversible, et cette réversibilité s'explique par la disparition du facteur indéterminé et variable D, qui apparaîtrait de manière périodique et discontinue dans le cytoplasma cellulaire.

Le travail de Della Valle demeure sans doute essentiellement théorique dans sa tentative d'explication ; on ne saurait trop, malgré cela, souligner son importance, car il démontre que les faits si complexes de la division nucléaire peuvent recevoir une interprétation purement physico-chimique. Mais il n'est pas prouvé que les hypothèses avancées dans ce remarquable travail constituent le schéma le plus exact de ces phénomènes ; remarquons en particulier que cet auteur parle souvent de colloïdes et de structures colloïdales, mais qu'il ne fait intervenir cependant que des solubilités vraies, alors que les relations entre les constituants du noyau doivent être beaucoup plus complexes.

L'évolution du noyau des cellules sexuelles, et spécialement des oocytes, est intéressante à considérer à ce point de vue.

Si l'on examine le cycle mitotique des oogonies, on retrouve évidemment les stades interprétés par Della Valle ; mais il n'en

(1) On remarquera que les théories cytologiques de l'hérédité admettent comme absolue la constance du nombre des chromosomes qui, d'après les recherches de Della Valle et de quelques autres observateurs, n'est qu'une moyenne statistique ; ces théories attachent aux différences de taille de ces éléments, dans une même figure de mitose, la signification d'une différence qualitative tandis que celle-ci apparaît comme exprimant les fluctuations quantitatives d'éléments *qualitativement* identiques.

est plus de même pendant la période de croissance de l'oocyte. Après la dernière mitose, on observe la reconstitution rapide d'un spirème, puis le stade synapsis, ou stade en bouquet, dont la signification reste encore indéterminée, soit qu'on le considère avec HERTWIG comme représentant une mitose avortée, soit qu'on le considère comme le moment de la « conjugaison des chromosomes ». Après ce stade, les anses chromatiques s'écartent, mais on peut observer à nouveau leur rapprochement, et un stade de « pseudo-synapsis » auquel succède généralement une résolution complète des filaments ; à ce moment, la dispersion de la chromatine est à son maximum dans un noyau de volume fortement accru. Mais les chromosomes de la première mitose de maturation ne se forment jamais conformément au schéma de DELLA VALLE à la périphérie du noyau ; ils apparaissent au centre de la vésicule germinative sous la forme de filaments plumeux, justement comparés par les cytologistes à des écouvillons ou bien à des « brosses à verre de lampe », identiques aux filaments que l'on peut observer dans un colloïde en voie de floculation, puis de précipitation ; et ce sont ces précipités chromatiques qui se condensent peu à peu en chromosomes vrais (1).

2. **Phénomènes cytoplasmiques de la division.** — Le schéma de DELLA VALLE suppose que les changements d'état nucléaires, dont le début est marqué par le gonflement prophasique, dépendent

(1) Voici quelques exemples de transformations nucléaires pendant l'oogenèse : Échinodermes (*Sphaerechinus*, *Echinocardium*, Holothuries, *Astropecten*, *Asterina*, etc.), d'après SCHAXEL (1911). On observe en général un stade en bouquet, puis une résolution en grains des anses synaptiques ; pas de pseudo-synapsis. La reconstitution des chromosomes se traduit par la formation de filaments d'abord irréguliers dans l'intérieur de la vésicule germinative. — *Ascaris megalocephala*, d'après FAURÉ-FREMIET (1913) : après la dernière mitose des oogonies on trouve un stade comparable à celui du noyau deutobroque (H. DE WINIWARTER), puis un stade synapsis, auquel succède un aspect pachytène, et enfin une résolution des chromosomes en grains (dispersion chromatique augmentée). Pendant la croissance de l'oocyte apparaît un état pseudo-synaptique avec concentration des grains de chromatine en une masse dense dans laquelle se reconstituent les chromosomes courts : formation des tétrades. — *Sabellaria alveolata*; DEHORNE (1911) note après la dernière mitose la formation d'anses leptotènes, puis de l'amas synaptique ; à ce stade succède un état quiescent avec augmentation du volume nucléaire et dispersion de la chromatine qui reconstitue ensuite un réseau avec deux gros nucléoles ; à ce moment, on observe une condensation du réseau donnant une pseudo-synapsis, ensuite de quoi se forment des chromosomes plumeux. — *Proteus* ; JÖRGENSEN (1910) observe un stade nucléaire à grains chromatiques après les dernières mitoses germinatives ; le spirème apparaît à la surface du noyau comme dans le schéma général de DELLA VALLE et les chromosomes subissent la division longitudinale ; ensuite apparaît le stade en bouquet ou synapsis, puis les anses chromatiques se désagrègent et l'on constate un état de dispersion maximum. Les granulations chromatiques s'accolent ultérieurement en filaments plumeux, puis en un réseau irrégulier qui précède la formation des chromosomes plumeux définitifs. Chez les Oiseaux et les Reptiles, MARIE LOYEZ (1905) a étudié la formation de ces chromosomes plumeux. On trouvera dans ces quelques travaux les principaux éléments bibliographiques de cette question spéciale relative à l'oogenèse ; les quelques exemples cités ici montrent nettement que le schéma de DELLA VALLE est trop simple et que les phénomènes très fréquents de dispersion ou de précipitation de la chromatine indiquent dans certains noyaux (vésicules germinatives) des variations importantes de l'état colloïdal.

de l'apparition dans le cytoplasma d'une substance x modifiant les conditions de solubilité réciproque des phases coexistantes. D'une manière plus générale, ce schéma indique que l'état physico-chimique du cytoplasma peut conditionner l'état du noyau.

Une belle démonstration expérimentale de cette hypothèse, dont le principe est admis par différents auteurs, a été donnée par Brachet (1922). Les oocytes d'Oursin (*Paracentrotus lividus*) pondus artificiellement avant la maturation sont inhibés au contact de l'eau de mer et figés au stade qu'ils avaient atteint au moment de leur expulsion forcée. Ces oocytes sont fécondables, mais la fécondation est toujours polyspermique.

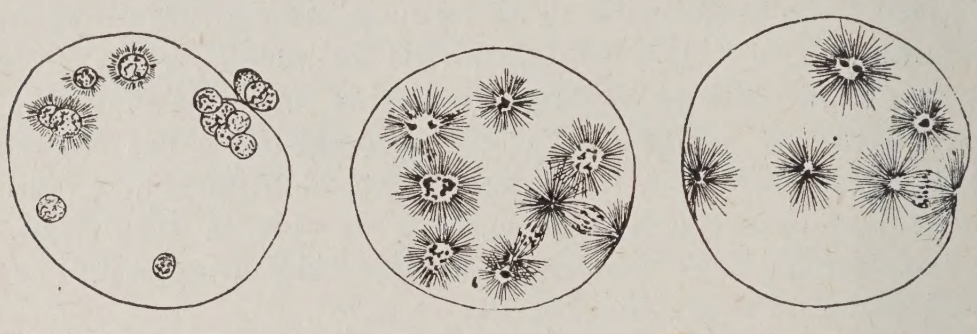


Fig. 16. — Œufs d'Oursin polyspermiques, d'après Brachet, 1922.
Les noyaux spermatiques sont tous au même état que le pronucléus femelle.

En examinant sur de nombreuses coupes en série ces œufs polyspermiques, Brachet constate que les *noyaux spermatiques, sitôt entrés dans l'oocyte, prennent l'aspect morphologique du noyau de celui-ci.* Si par exemple le pronocléus femelle, déjà en voie de reconstitution au moment de la ponte, est figé sous l'aspect de vésicules juxtaposées, toutes les têtes spermatiques se gonflent en pronucléus imbibés de suc. Si au contraire le noyau de l'oocyte est en métaphase de première ou de seconde mitose de maturation, chaque tête spermatique se résout en chromosomes (fig. 16), et cela en l'espace de quelques minutes, *sans passer par le stade habituel de pronucléus vésiculeux.* Sitôt cette transformation effectuée, les noyaux mâles comme les noyaux femelles sont immobilisés. On doit donc conclure avec Brachet : « la composition, ou l'état physique du cytoplasma impose à la chromatine nucléaire une structure morphologique déterminée. L'état du cytoplasma conditionne la structure nucléaire. »

Cette conclusion est confirmée par Dalcq (1923) sur l'œuf d'*Asterias*, et par Fauré-Fremiet (1924) sur l'œuf de *Sabellaria.*

Quelle que soit la cause immédiate ou la nature intime des changements d'état cytoplasmique au moment de la division cellulaire, ceux-ci ne conditionnent pas seulement la morphologie du noyau ainsi que la disparition de sa membrane et la diffusion du suc nucléaire,

sur l'importance de laquelle DALCQ insiste à juste titre ; ces changements d'état se traduisent encore par l'apparition dans le cytoplasma lui-même de la figure achromatique sur la nature de laquelle nous devons insister maintenant.

Les différents aspects du centrosome, de la sphère attractive, des irradiations polaires puis du fuseau ; ceux du développement des astrosphères, du fuseau central et des fibres du manteau sont trop classiques pour que nous en reprenions la description que l'on trouvera en détail dans les traités de cytologie D'HENNEGUY, HERTWIG, HEIDENHAIN, PRENANT, etc., et nous aborderons directement l'étude des propriétés physico-chimiques de la figure achromatique.

L'étude détaillée de cette figure et de ses différents états a été faite en grande partie sur des coupes histologiques, et FISCHER a montré que les réactifs fixateurs pouvaient produire, dans des gelées albuminoïdes, des figures radiées ; la figure achromatique ne serait-elle qu'un « artefact » ? BOVERI s'élève contre une telle interprétation, car la figure achromatique a pu être observée également *in vivo* ; il admet qu'elle est constituée par une substance spéciale, « archoplasma » ou « cyanoplasma », qui apparaît périodiquement dans la cellule. Cette substance est bien conservée par le réactif picroacétique, tandis que celui-ci gonfle la substance fondamentale du cytoplasma qui se vacuolise.

La figure achromatique possède, par rapport au cytoplasma environnant, une certaine rigidité. Les expériences de LILLIE (1908) montrent que le fuseau de maturation, par exemple, se déplace d'un seul bloc à travers le cytoplasma ovulaire sous l'influence de la force centrifuge ; MAC CLENDON (1910) fait agir un champ électrique sur des cellules végétales et constate que la chromatine est mobile à l'intérieur du noyau au repos, tandis que, au stade de plaque équatoriale, elle fait corps avec le fuseau qui l'enrobe, et toute la figure achromatique se trouve entraînée sans déformation.

Les expériences de microdissection confirment ces premières indications. Nous ne décrirons pas ici le dispositif utilisé par CHAMBERS (1917 à 1922) ; c'est un mécanisme renouvelé de l'ingénieux appareil de CHABRY, qui permettait, à l'aide d'une très fine aiguille de verre, de piquer un blastomère déterminé dans un œuf en voie de segmentation. Mais la précision des appareils actuels est telle que l'on peut atteindre une région déterminée d'une cellule observée sous un puissant objectif, la piquer, en aspirer le contenu, ou même lui injecter des liquides variés.

En 1917, CHAMBERS, étudiant l'œuf d'*Arbacia*, montre par la microdissection que le cytoplasma est une substance fluide enfermant des inclusions (microsomes $< 1\ \mu$ persistants après désagrégation, et

macrosomes de 2 à 4 μ labiles). Mais la consistance du cytoplasma n'est pas la même en tous ses points ; la surface externe est un gel résistant extensible et contractile qui passe graduellement à l'état plus fluide (sol) du cytoplasma intérieur (d'après la terminologie de Mayer et Schaeffer il faudrait dire que la surface externe est une gelée qui passe graduellement vers l'intérieur à l'état de gel fluide).

Une propriété très générale du cytoplasma fluide interne est de reconstituer immédiatement une pellicule superficielle, une gelée consistante à la surface de contact avec l'eau de mer, après un accident ou une lésion mécanique quelconque. Cependant, si cette lésion est trop étendue, la pellicule ne peut pas toujours se reconstituer, et le cytoplasma fluide s'écoule dans l'eau en diffluant ou bien se coagule à son contact.

Ces expériences démontrent un fait important : l'*état colloïdal du cytoplasma est très instable.* Il passe très facilement de l'état de gel fluide à l'état de gelée semi-rigide et il suffit parfois d'une compression légère pour déterminer sa coagulation, laquelle débute fréquemment par une *acidification* de la région lésée, immédiatement décelée par le virage du pigment brun de l'œuf d'*Arbacia.* Enfin, dans l'œuf non mûr, le contenu liquide de la vésicule germinative exerce une action destructive sur le cytoplasma quand ces deux constituants entrent directement au contact l'un de l'autre.

Les variations de l'état du cytoplasma au cours de la division sont étudiées dans deux autres mémoires de Chambers (1917 et 1918) ; ses expériences de microdissection apportent un premier résultat : l'aster ou l'amphiaster constitue bien une masse semi-solide comme on l'a vu tout à l'heure ; mais la *sphère* proprement dite est fluide, et les rayons visibles *in vivo* de l'aster seraient non point des filaments résistants, mais des *canaux* amenant le cytoplasma resté fluide jusqu'à la sphère dont le volume s'accroît tant que le développement maximum de l'aster n'est pas réalisé. Entre ces canaux, le cytoplasma est pris en gelée, d'où la rigidité de l'ensemble. Cet état semi-rigide est plus accentué au contact de la sphère elle-même, et passe graduellement à la fluidité normale du cytoplasma vers la périphérie.

Dans les mitoses de maturation, l'aster périphérique ou distal forme avec la pellicule superficielle de l'œuf une masse gélifiée continue, ce qui explique certains résultats obtenus par Lillie dans les expériences de centrifugation. Enfin, on constate, au cours des processus de la division, une réversibilité parfaite des états de « gel » et de « sol », disons des états de gelée semi-solide et de gel fluide que peut prendre le cytoplasma ; il n'y a donc pas lieu d'admettre avec

Boveri que la figure achromatique est constituée par une substance particulière : les termes d'archoplasma ou de cyanoplasma n'expriment qu'un état physique particulier du cytoplasma normal.

Le cycle des transformations cytoplasmiques de la mitose peut être résumé ainsi :

a) formation du monoaster : la plus grande partie du cytoplasma de l'œuf est gélifiée ;

b) les radiations du monoaster s'évanouissent, le cytoplasma redevient fluide, la masse liquide de la sphère se sépare et se porte aux deux pôles du noyau ;

c) les deux sphères polaires s'entourent de nouvelles irradiations et le cytoplasma se gélifie à nouveau ;

d) la fluidité du cytoplasma reparaît à l'équateur de la cellule ; les deux astrosphères sont séparées, le fuseau est coupé, on observe la constriction cellulaire.

D'après Chambers, la transformation gel → sol commence à l'équateur et s'étend vers les pôles, tandis que la transformation inverse sol → gel débute autour de la sphère et s'étend vers la périphérie.

D'autre part, la gélification du cytoplasma n'assure qu'une semi-rigidité, car on constate des changements graduels dans la position des granules « enlisés » dans la gelée interradiale de l'aster, et de même qu'une action mécanique peut modifier la fluidité du cytoplasma intercinétique, de même une simple piqûre peut détruire l'état de gelée et ramener le cytoplasma à l'état fluide.

La conclusion de ces expériences n'est pas douteuse : les différents aspects successifs de la figure achromatique relèvent de changements dans l'état colloïdal du cytoplasma ; on verra bientôt que Heilbrunn est arrivé par une autre méthode à des résultats sensiblement identiques.

Si, comme le montre Chambers, l'état physique du cytoplasma est instable, il doit être possible, dans des conditions expérimentales simples, de produire de telles alternatives de gélification et de liquéfaction cytoplasmique.

Herlant (1913) constate, au cours d'expériences sur l'œuf de Grenouille, que des radiations cytoplasmiques peuvent se former perpendiculairement au trajet de l'aiguille pendant la piqûre parthénogénétique simple ; mais il faut une autre condition pour produire des asters véritables. Hertwig (1887) avait déjà obtenu dans l'œuf de *Strongylocentrotus* traité par le sulfate de quinine, des figures multipolaires ; mais c'est Morgan (1896) qui obtint le premier la formation d'astrosphères artificielles chez des œufs de *Sphaerechinus* fécondés, placés quelques minutes dans l'eau de mer nor-

male, puis traités par une solution hypertonique d'eau de mer + NaCl à 1,5 %.

Après fixation, on constate sur les coupes l'apparition dans le cytoplasma de masses nébuleuses qui s'organisent peu à peu suivant une structure rayonnée ; il existe au centre une sphère claire, distincte, avec quelques granules colorables ; si l'action de l'eau de mer hypertonique est prolongée, les rayons vont jusqu'au centre, et parfois on observe des structures radiées autour d'un filament central, rappelant les chromosomes plumeux ou en écouvillons. Enfin, plusieurs de ces asters peuvent se fusionner. Si les œufs sont replacés dans l'eau de mer normale, ces figures s'effacent rapidement et ne jouent aucun rôle dans la segmentation (1).

Morgan obtient des résultats analogues sur les œufs d'une Ascidie, *Phallusia mamillata* ; mais il remarque que l'action de NaCl est sans doute complexe, car elle détermine un début de cytolyse avec formation de vacuoles ; aussi expérimente-t-il un autre sel, $MgCl^2$ avec lequel il obtient (1899) des faits plus précis. Morgan estime tout d'abord que la substance des astrosphères artificielles ou « cytasters » de Wilson est la partie la plus condensée du cytoplasma, et non point un archoplasma spécifique au sens de Boveri ; cette conclusion, comme on l'a vu, est renouvelée dix-huit ans plus tard par Chambers d'après les résultats d'une toute autre méthode expérimentale. Cette partie condensée du cytoplasma peut s'irradier par l'ordination en files des alvéoles protoplasmiques (Wilson 1895, Rhumbler, etc.).

Morgan réussit à produire des cytasters dans les œufs d'*Echinarachnius*, *Asterias mahattensis*, *Nereis limbata*, *Sipunculus Gouldii*, *Cerebratulus lacteus*.

Ces cytasters artificiels transportent les chromosomes dans diverses parties du cytoplasma de l'œuf ; des fuseaux de direction peuvent apparaître entre eux ; ils déterminent des mitoses polycentriques ; bref, toutes leurs propriétés sont semblables à celles des astrosphères normales, et même au point de vue cytologique on peut constater la présence de corpuscules colorables comme des centrioles dans leurs sphères centrales.

D'autres procédés permettent d'obtenir des cytasters ; Morgan (1900) emploie $MgCl^2$ à 8-10 % pendant 5 à 10 minutes, ou bien à 3,5 % pendant 2 à 3 heures ; ou encore la strychnine ou son sulfate en solution à 1/4 % ou 1/8 % dans l'eau de mer, ou encore, plus simplement, un refroidissement temporaire des œufs à —1° C.

Wilson (1901) expérimente sur l'œuf transparent du *Toxopneustes*

(1) Les œufs non fécondés donnent des amas granuleux mais peu ou pas d'irradiation.

les solutions de MORGAN. Il obtient les meilleurs résultats avec la solution suivante :

Eau de mer ..... 1 partie
$MgCl^2 \frac{20}{8} N$ (± 12 %)..... 1 partie

utilisée par LOEB pour la parthénogenèse expérimentale.

Comme MORGAN, il retrouve l'effet compensateur du temps d'action par rapport à la concentration en sel.

Le premier phénomène observé est une irradiation cytoplasmique centrée sur le noyau, puis une croissance de celle-ci et la formation d'une zone hyaloplasmique périnucléaire.

Les cytasters se forment ensuite dans toute la masse cytoplasmique ; ils possèdent une sphère hyaloplasmique centrale.

A un stade ultérieur, les radiations primitives s'effacent ou se réduisent et la membrane nucléaire disparaît, mais les rayons se reconstituent autour de l'aire nucléaire comme au niveau des cytasters, et l'on observe dans les œufs qui se développeront l'apparition d'un amphiaster typique (1). La première mitose s'effectue dès lors, comme dans un œuf fécondé, mais la segmentation est irrégulière.

Les cytasters de WILSON ne peuvent guère se distinguer des astrosphères normales, car ils possèdent des corps centraux colorables dont

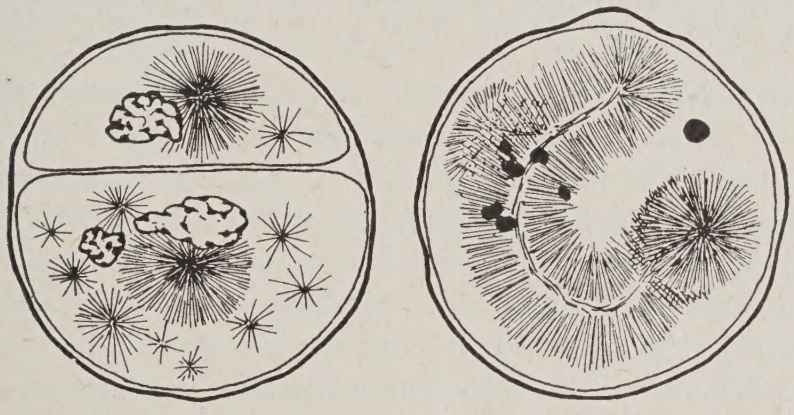


FIG. 17. — Formation de cytasters et de sphères attractives géantes dans l'œuf de *Sabellaria* à la température de 28° C. (FAURÉ-FREMIET 1924).

la division précède celle du cytaster ; de même que dans les expériences de MORGAN, ces cytasters agissent sur les chromosomes comme des asters normaux et donnent naissance à des mitoses multipolaires. Enfin, leur origine est bien certainement cytoplasmique, car ils appa-

(1) La radiation primaire centrée sur le noyau ne renferme pas de centrioles, mais un centrosome se forme *de novo* au contact du noyau et c'est lui qui s'entoure d'un aster secondaire.

raissent aussi bien dans des fragments d'œufs anucléés obtenus par secouage que dans des œufs entiers et normaux.

Bataillon (1904) en étudiant sur les œufs de *Rana fusca* et de *Petromyzon Planeri* l'action des solutions salines ou sucrées utilisées comme agents de parthénogenèse expérimentale, constate que ces corps ne déterminent pas seulement une fragmentation du cytoplasma mais provoquent la formation d'asters plus ou moins nombreux ; ces « centres » ou cytasters se divisent activement, mais sans provoquer nécessairement la segmentation de l'œuf.

L'action d'un brusque refroidissement, tel qu'un passage de la température de 30° ou 35° à celle de 12°, combinée avec l'action des sels, favorise la formation des cytasters.

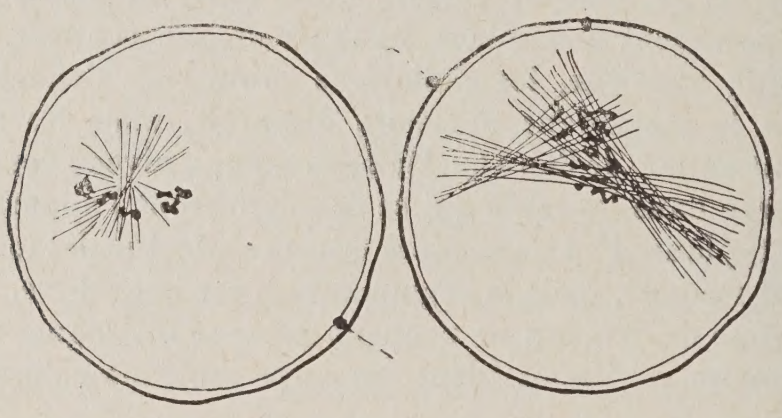


Fig. 18. — Régression de la figure achromatique chez l'œuf de *Sabellaria* au-dessous de 7° C. (Fauré-Fremiet 1924).

Enfin Ephrussi (1923) constate chez l'œuf de *Paracentrotus lividus* placé à 32° la formation d'asters accessoires, et chez l'œuf de *Sabellaria*, des cytasters se forment spontanément (fig. 17) lorsque la température monte au-dessus de 28° (Fauré-Fremiet 1924).

Inversement, Hertwig avait noté la régression de la figure achromatique normale de l'œuf de *Strongylocentrotus* placé deux heures à la température de 15° et refroidi ensuite à —2° C. *Mais cette régression est un phénomène réversible*, car les radiations reparaissaient ensuite par le réchauffement. La régression de la figure achromatique commence (fig. 18) chez l'œuf de *Sabellaria* au-dessous de +6° (Fauré-Fremiet 1924) (1).

Les caractéristiques physiques du cytoplasma, qui ont été étudiées dans le premier chapitre, nous montrent que tous les facteurs capables de déterminer la formation des cytasters, actions mécaniques, action osmotique ou précipitante des sels, action chimique de substances diverses, variations de température, sont capables

(1) Voir aussi Hovasse (1923).

d'augmenter l'hétérogénéité du système cytoplasmique, soit en modifiant la répartition des phases, soit en modifiant l'état colloïdal de l'hydrogel albuminoïde que les expériences de CHAMBERS nous montrent tout particulièrement instable.

A plus forte raison, le deuxième facteur de la parthénogenèse traumatique chez les Batraciens, c'est-à-dire l' « inoculation » d'une particule de substance organique (BATAILLON, HERLANT) peut déterminer la formation d'hétérogénéités.

HERLANT (1913) montre que la piqûre seule détermine quelques radiations locales, et déclanche la deuxième mitose de maturation. Revenu au repos, le noyau femelle est entouré de zones concentriques marquées par des condensations pigmentaires, et d'une irradiation qui envahit en deux heures tout le cytoplasma et s'accompagne de la formation *de novo* d'un centrosome femelle.

Avec l' « inoculation », de nombreux asters indépendants apparaissent autour de la zone de piqûre ; ils sont comparables aux cytasters de MORGAN et de WILSON et leurs radiations s'étendent dans tout le cytoplasma en limitant la zone d'extension de l'irradiation (énergide) femelle.

Quelles sont maintenant les causes déterminant la formation normale de la figure achromatique ?

FISCHER et W. OSTWALD (1905) remarquent que tous les facteurs qui peuvent déterminer la formation des astrosphères dans l'œuf sont en même temps capables de transformer un « sol » en « gel » et A. FISCHER (1899) avait déjà obtenu des images analogues à des astrosphères en coagulant par des réactifs des solutions d'albumose incluses dans les mailles de la moelle de sureau.

Dans la cellule normale, certaines conditions physico-chimiques sont nécessaires pour l'apparition de la figure achromatique ; telle est par exemple l'alcalinité du milieu cytoplasmique dans l'œuf de *Sabellaria*, et il est possible que cette condition soit assez générale, car DRAGOIU, VLÈS et ROSE (1923) ont montré que, chez l'œuf d'Oursin, les astrosphères et le fuseau disparaissent par acidification lorsque le pH du milieu tombe vers 4 ou 5 (1).

3. **Relations entre la figure achromatique et le noyau.** — BOVERI (1896) avait déjà noté certains cas d'asynchronisme entre la division du noyau et celle des centrosomes pouvant conduire à la formation de deux blastomères dont l'un contient la totalité du noyau de segmentation encore à l'état de spirème et un centre,

(1) Au sujet de l'action des conditions externes sur la figure achromatique voir également les travaux de KONOPACKI (1911 et 1918), KOSTANECKI (1904), LEO LOEB (1921), OES (1908), etc.

l'autre contenant un centre seulement. Il constate que la division du centrosome et de l'aster peut se poursuivre dans le blastomère anucléé, mais sans entraîner la division cellulaire.

Ziegler (1898) a pu obtenir dans les mêmes conditions la division complète du blastomère anucléé ; le fuseau et la figure achromatique normale peuvent donc se former en l'absence complète d'éléments nucléaires.

De même Wilson (1901) et Teichmann (1903) ont obtenu des résultats analogues sur des fragments énucléés par secouage d'œufs de *Toxopneustes variegatus* et d'*Echinus microtuberculatus*.

Yatsu (1905) enlève les masses chromatiques par sections chez l'œuf de *Cerebratulus lacteus*, et la division de la figure achromatique continue.

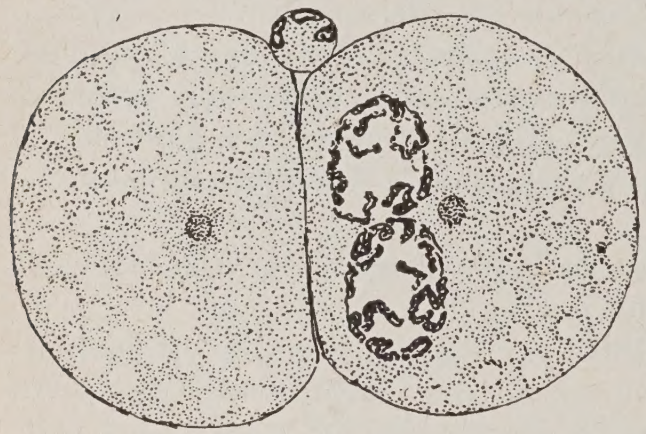


Fig. 19. — Œuf d'*Ascaris* asphyxique ; asynchronisme entre la division de la figure achromatique et celle du noyau.

Mac Clendon (1908) aspire avec une pipette le premier fuseau de maturation de l'œuf d'*Asterias Forbesi* ; après avoir plongé cet œuf énucléé dans l'eau de mer saturée de CO^2 pendant 5 minutes, une segmentation aboutissant à la séparation de nombreux blastomères s'effectue aux dépens de la seule figure achromatique.

Chez l'œuf d'*Ascaris*, Fauré-Fremiet (1913) a constaté des divisions asynchromes et la division ultérieure du blastomère énucléé, mais pourvu d'un centrosome (fig. 19).

Cependant les recherches de Herlant et l'examen des figures de Conklin, Teichmann, Boveri, etc., montrent que certaines relations lient les dimensions de la figure achromatique et la masse nucléaire lorsqu'elles coexistent dans les conditions normales. La longueur du grand axe de la figure de mitose varie avec la masse nucléaire ; c'est ainsi que cet axe est plus grand dans le cas de la division d'un noyau de fécondation que dans le cas de la division d'un monokaryon. Chez la Grenouille, le rapport de ces deux longueurs serait, d'après Herlant, de 4 à 5 environ.

On sait que la figure de mitose considérée comme un champ de force bipolaire a donné lieu à un très grand nombre d'interprétations physiques ; toutes se heurtent à de sérieuses difficultés, et quel que soit leur intérêt général, nous ne pouvons que signaler ici

les excellentes mises au point de la question publiée par A. GALLARDO (1909 et 1910) et PRENANT (1910).

Au point de vue objectif, la relation entre la longueur du fuseau et la masse nucléaire ou chromatique est liée à une autre relation définie par la loi de TEICHMANN : la profondeur du sillon de segmentation est proportionnelle à l'écartement des pôles du fuseau ; ou, en d'autres termes, plus l'axe d'une figure de mitose est court, plus cet axe doit être rapproché de la membrane cellulaire pour donner naissance à un sillon de division effectif.

La loi de TEICHMANN s'applique bien entendu au cas où le premier fuseau de segmentation n'occupe pas le centre de la cellule et se trouve tangent à la surface.

HERLANT déduit de la loi de TEICHMANN que, lorsque deux mitoses de longueur d'axe différentes sont à égale distance d'un point d'appui pour le plan de segmentation dont chacune d'elles va provoquer la formation, cette formation sera plus lente au niveau de la mitose courte qu'au niveau de la mitose longue.

Cette introduction du temps dans l'exposé de la loi de TEICHMANN conduit HERLANT à esquisser une mécanique de la division cellulaire indépendante de toute hypothèse sur la nature du champ de force. Cette mécanique explique parfaitement le cas de la parthénogenèse traumatique chez la Grenouille ; les asters accessoires repoussent vers la surface de l'œuf la figure de mitose du noyau femelle, plus courte que normalement puisqu'elle est en rapport avec un monokaryon, et lui permet, grâce à ce rapprochement, de provoquer la formation rapide d'un sillon de division.

Cette mécanique de la division est encore justiciable d'un autre point de vue ; d'après CHAMBERS (1919) le développement de l'amphiaster correspond à la formation de deux masses semi-solides qui s'accroissent à la périphérie. L'élongation cellulaire qui précède le clivage peut donc être considérée comme le résultat de la pression réciproque que ces deux masses exercent l'une sur l'autre pendant leur croissance, laquelle, on s'en souvient, s'effectue aux dépens du cytoplasma fluide de la cellule. Lorsque tout le cytoplasma s'est gélifié et que la liquéfaction commence à se manifester dans une zone équatoriale annulaire, le clivage se produit et isole deux masses qui retourneront progressivement à l'état fluide intercinétique. Dans les expériences de CHAMBERS, si la mutilation d'un œuf en voie de mitose ne change pas son état de « gélification », la division s'achève ; si au contraire le traumatisme expérimental entraîne une liquéfaction du cytoplasma, la division ne peut se poursuivre.

Ces quelques faits montrent, au même titre que les observations de HERLANT, que les changements d'état physique du cytoplasma

réalisent les conditions nécessaires pour une mécanique de la division cellulaire indirecte (1).

4. **Energétique de la division cellulaire.** — Les phénomènes de la division cellulaire déterminent toujours, évidemment, des changements de la forme extérieure, tels que l'élongation de la cellule et sa scission. Ces changements de forme s'accompagnent toujours d'une augmentation de la surface, sans que le volume varie nécessairement ; on peut donc supposer, en première approximation, qu'un travail est effectué contre le milieu extérieur ; il se traduit par des variations de courbures d'où il résulte que la tension superficielle de la cellule n'est plus équilibrée, en même temps que l'énergie de surface totale se trouve augmentée.

Mais en même temps que ces variations de la forme externe, il se produit des changements de forme interne, aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasma. Il y a donc ici encore un travail qui s'effectue contre la viscosité et les forces capillaires intracytoplasmiques.

Enfin il semble infiniment probable que des synthèses chimiques se produisent au cours de la division, et celles-ci ne peuvent se faire sans que l'énergie interne du système varie.

Quelle est la source d'énergie mise en jeu par ces diverses transformations, par ces différentes formes de travail ? On peut la chercher dans les phénomènes chimiques et particulièrement dans les réactions exothermiques d'oxydation.

Demoor (1894) a montré que l'oxygène accélère les processus de la division mitotique, bien que ceux-ci puissent *se terminer* dans une atmosphère anaérobie. Citons seulement ici les recherches sur l'absorption d'oxygène par les œufs en voie de segmentation (lesquelles seront analysées plus loin) de Warburg (1908-1915), J. Loeb et Wasteneys (1911), Meyerhof (1911), Schearer (1922), Vlès (1922), Fauré-Fremiet (1922).

Hallez (1885) a vu que la division de l'œuf d'*Ascaris* ne peut commencer qu'en présence d'oxygène ; Samassa (1898), Bataillon (1910), Fauré-Fremiet (1913) ont toujours vérifié ce fait. Léo Loeb et Fleischer (1911) constatent que la croissance des tissus *in vitro* ne peut se faire sans oxygène. Watermann et Dirken (1921) trouvent que les tumeurs à divisions cellulaires actives consomment beaucoup plus d'oxygène que des tissus normaux, etc., etc.

---

(1) Cette mécanique de la division cellulaire peut être liée à des conditions particulièrement complexes ; tel est le cas particulier de la formation des globules polaires, au sujet desquels une note de Duesberg (1924) a soulevé avec Brachet et Dalcq une intéressante discussion.

En résumé, la consommation d'oxygène est la règle au cours de la division cellulaire, et l'on peut démontrer que cette absorption est bien un phénomène respiratoire, toujours accompagné par un dégagement de CO^2 ; il y a donc combustion de substances organiques (graisses, hydrates de carbone, etc.) et libération d'énergie puisque ces réactions sont exothermiques.

Si l'énergie transformée pendant le travail de division a sa source dans les réactions chimiques, le coefficient de température de la division doit être compris entre 2 et 3 comme celui des réactions chimiques en général.

Nous avons noté (page 97) les valeurs du coefficient Q_{10} de la période *comprise entre deux divisions*, c'est-à-dire le coefficient de l'accroissement de masse cellulaire.

Les mesures relatives aux phénomènes de la division eux-mêmes sont plus délicates, car il est difficile de repérer des stades rigoureusement comparables.

De Wildeman (1891) mesure à diverses températures la vitesse de la mitose dans les cellules des poils staminaux de *Tradescantia*. Ces chiffres se situent très étroitement autour d'une courbe moyenne qui permet de calculer le coefficient de température. Nous trouvons d'après ces déterminations :

$Q_{10} = 1,5$ entre 35° et 45°
1,55 — 25° et 35°
1,57 — 15° et 25°

La valeur de Q_{10} est donc remarquablement constante ; mais Jolly admet que les mesures de de Wildeman sont trop faibles en valeur absolue et ne s'appliquent certainement qu'à une partie du cycle mitotique.

Maltaux et Massart (1906) ont mesuré en fonction de la température chez *Chilomonas paramaecium* le temps qui s'écoule entre l'apparition des quatre flagelles et la division du corps. La courbe moyenne tracée avec leurs chiffres permet de calculer le coefficient de température dont la valeur est encore ici remarquablement constante :

$Q_{10} = 2,4$ entre 24° et 34°
2,5 — 19° et 29°
2,9 — 14° et 24°

Jolly (1904) a fait de très nombreuses mesures (fig. 20, A) sur les différents stades de la division d'une même espèce de cellules : les hématies du *Triton*(1); depuis le stade de peloton lâche jusqu'à la

(1) Strangeways (1921) a étudié également la durée des diverses phases de la division dans les cellules cultivées *in vitro*.

bipartition cellulaire, on peut calculer les valeurs suivantes du coefficient de température :

Q_{10} = 1,86 entre 20° et 30°
2,14 — 15° et 25°
2,15 — 10° et 20°
2,69 — 5° et 15°
3,19 — 2° et 10°

Dans la segmentation des œufs, on peut presque considérer le

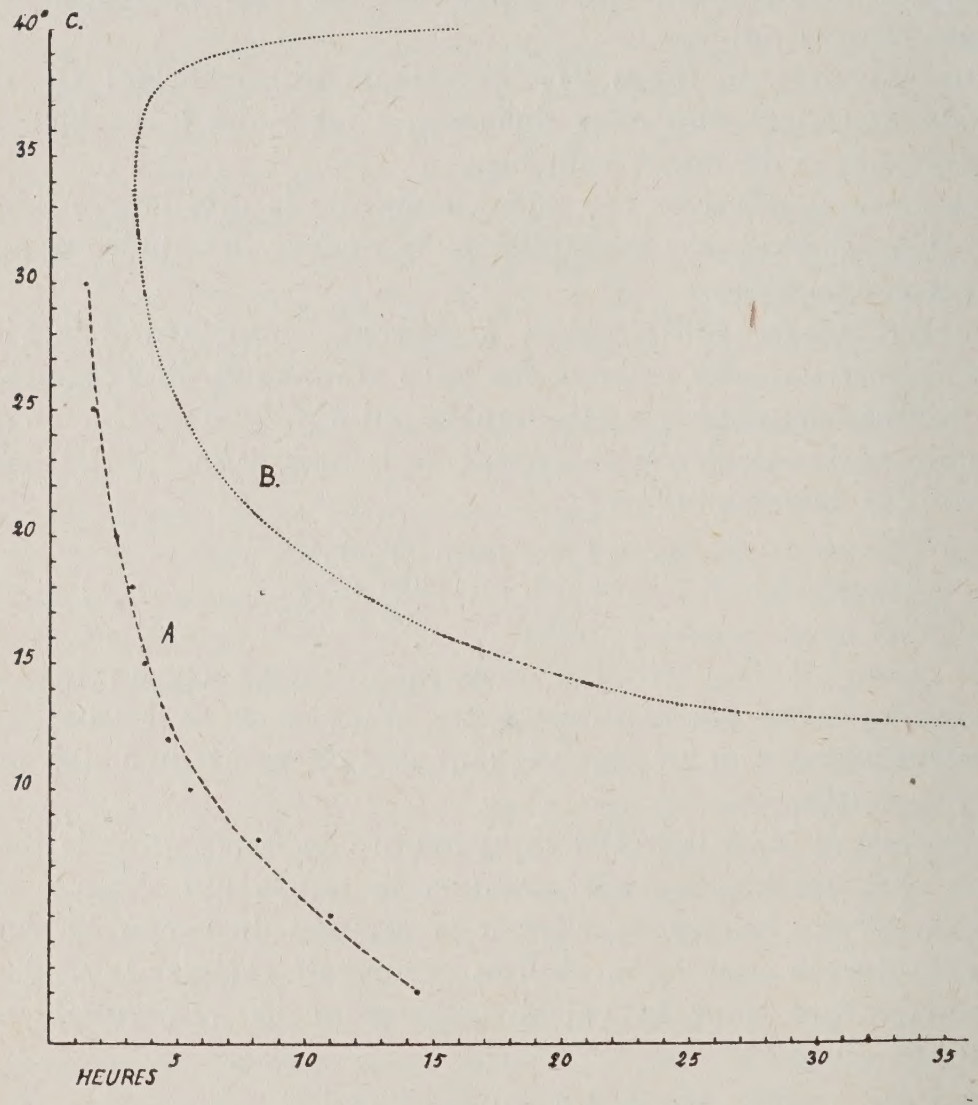


FIG. 20. — Durée de la division cellulaire en fonction de la température.
A. Hématie de *Triton*, d'après JOLLY. — B. Œuf d'*Ascaris* (1re mitose), d'après FAURÉ FREMIET.

temps écoulé entre la fécondation et le premier clivage, comme la durée d'une division.

Nous avons déjà vu que PETER calcule le coefficient de température de la première division de l'œuf de Grenouille d'après les

chiffres de HERTWIG, et trouve des valeurs comprises entre 2,8 et 3 ; les chiffres qu'il obtient pour la segmentatiod des œufs de *Sphaerechinus* et d'*Echinus* sont semblables.

Chez *Strongylocentrotus*, J. LOEB (1908) trouve les valeurs suivantes :

Q_{10} = 1,74 entre 12° et 22°
1,90 — 10° et 20°
2,04 — 9° et 19°
3,27 — 7° et 17°
3,52 — 5° et 15°
3,88 — 4° et 14°
3,91 — 3° et 13°

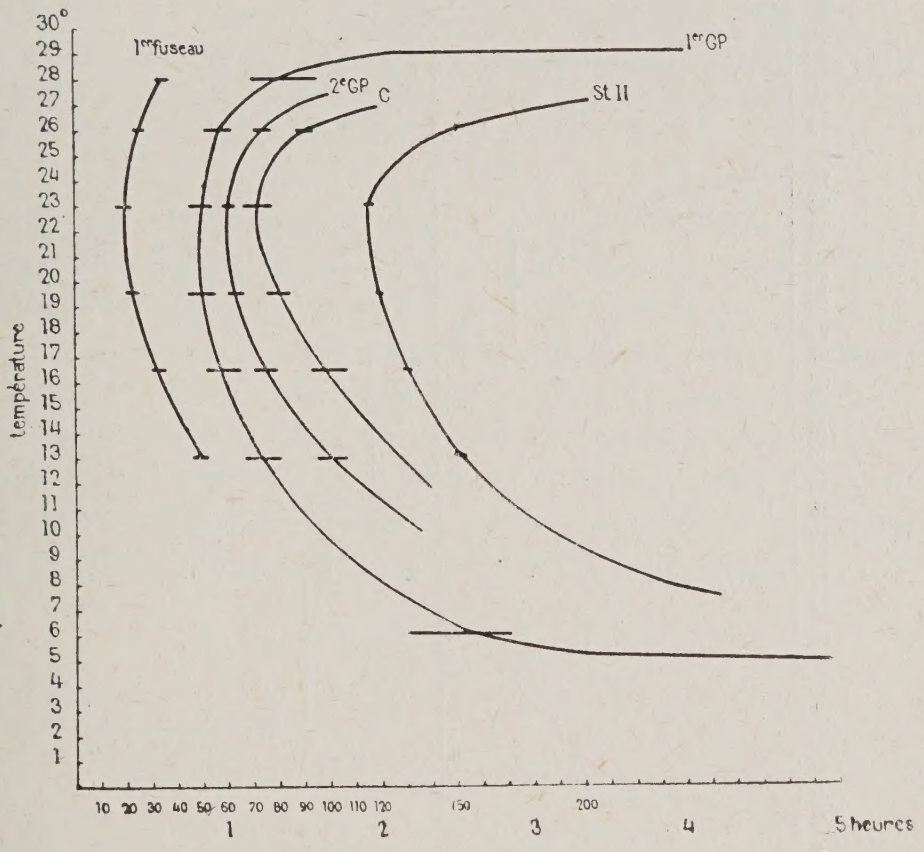


FIG. 21. — Durée des premières divisions de l'œuf de *Sabellaria* en fonction de la température (FAURÉ-FREMIET 1924).

Enfin, chez l'œuf d'*Ascaris* (fig. 20 B), FAURÉ-FREMIET (1913) calcule les coefficients suivants :

Q_{10} = —4,1 entre 37° et 42°
0,0 — 32° et 37°
+1,84 — 23° et 32°
3,93 — 16° et 23°
6,25 — 0° et 16°

et chez l'œuf de *Sabellaria* (fig. 21), il trouve

Q_{10} =	$-\infty$	entre	27°	et 29°
	−3.2	—	27°	et 27°
	−1,54	—	23°	et 26°
	−1,50	—	22°	et 23°
	+1,27	—	19°,5	et 22°
	+1,28	—	16°,5	et 19°,5
	+2.16	—	13°	et 16°,5
	+2.66	—	7°	et 13°
	$+\infty$	—	5°	et 7°

La comparaison de ces diverses valeurs montre de toute évidence

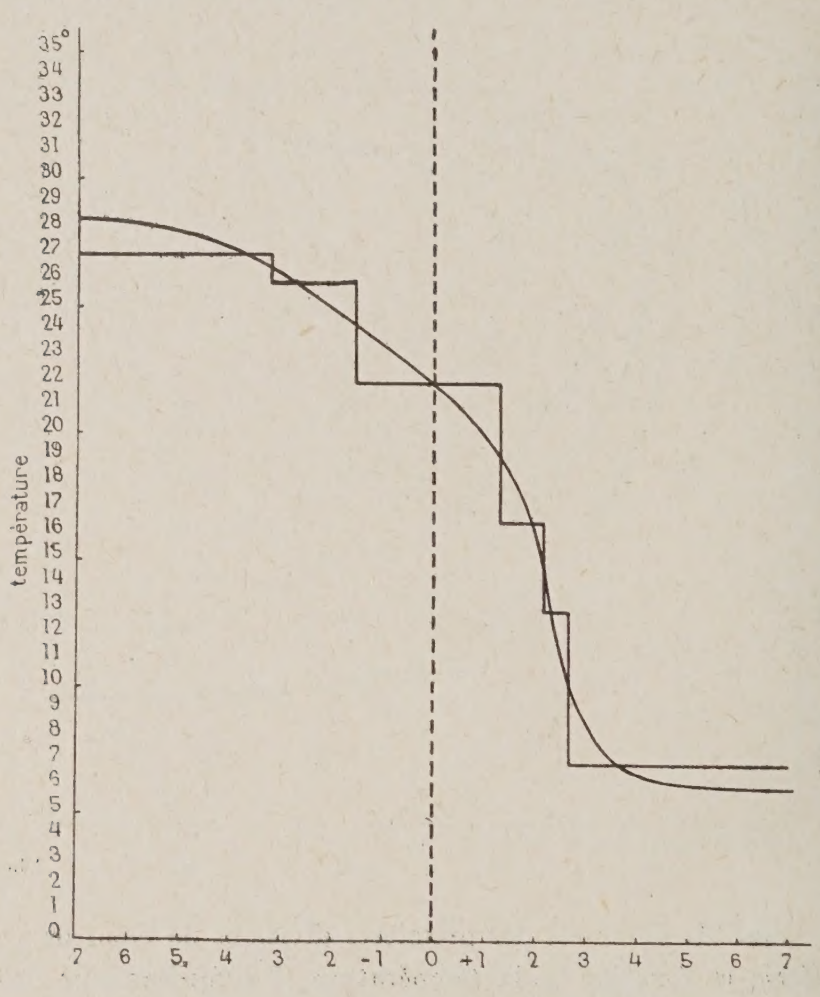


FIG. 22. — Variation du coefficient Q_{10} en fonction de la température pour la division de l'œuf de *Sabellaria* (FAURÉ-FREMIET 1924).

que de petites cellules, *Chilomonas*, érythrocytes nucléés, etc., ou des cellules contenant beaucoup d'eau sous la forme de suc cellulaire, cellules de *Tradescantia* par ex., ont un coefficient de température *sensiblement constant* dans une assez large échelle et de même valeur que celui des réactions chimiques. Au contraire, les cellules volumineuses, à cytoplasma abondant ou chargé d'éléments deutoplasmiques,

ont un coefficient de température essentiellement variable (fig. 22) dans l'échelle comprise entre 0° et 40° ; aux basses températures on trouve toujours $Q_{10} > 3$ et même > 6 (chez l'*Ascaris*). Il est donc infiniment probable que des phénomènes qui ne sont plus d'ordre

FIG. 23. — Chronologie des phénomènes de la division mitotique chez l'œuf d'*Ascaris* à la température de 37° C. Les temps sont comptés en minutes à partir de l'exposition de l'œuf au contact de l'air.

chimique agissent également sur la vitesse de division, et que le coefficient de température de ceux-ci possède une valeur élevée (1).

Il est également probable que ce ou ces facteurs nouveaux ont plus d'importance quand la masse cytoplasmique est très développée, ce qui explique les deux catégories de cellules signalées tout à l'heure.

Ces facteurs agissent sans doute différemment sur les divers stades de la mitose, car d'après les chiffres de J. JOLLY nous trouvons pour la phase d'étranglement cellulaire une valeur de Q_{10} sensiblement constante, tandis que pour la phase diaster, nous avons :

$Q_{10} = 1,25$ entre 22° et 32°
1,60 — 12° et 22°
3,90 — 4° et 14°

et pour la phase peloton lâche → étoile mère :

$Q_{10} = 1,2$ entre 25° et 30°
2,2 — 20° et 25°
4,13 — 14° et 20°

La viscosité du gel cytoplasmique est peut-être l'un de ces facteurs (2) ; FAURÉ-FREMIET (1913) a tenté d'avoir une mesure indi-

(1) Voir VICTOR HENRI (1912) ; MATISSE (1921) a discuté la question du coefficient de température pour les phénomènes biologiques en opposant la loi de Van t'Hoff et la loi d'Arrhénius. Il insiste sur la complexité des phénomènes biologiques et sur le fait qu'une variation de température agit à la fois sur la vitesse des processus chimiques et sur des états physiques.

(2) PANTIN (1923 et 1924) a déterminé les valeurs du coefficient Q_{10} de la vitesse de translation d'une Amibe du type *limax* et calculé le travail effectué par le mouvement amiboïde correspondant. Le problème est analogue à celui de la division cellulaire, car la valeur du travail interne, qui serait de beaucoup le plus important, est liée à la viscosité protoplasmique et à ses variations ; il dépend donc *indirectement* de la température, et posséderait un coefficient Q_{10} variable et très élevé aux basses températures.

recte des variations de cette viscosité en soumettant des œufs d'*Ascaris* à la centrifugation sous régime constant (2500 tours par minute, rayon = 14 centimètres) et en déterminant le temps nécessaire pour faire passer les granules cytoplasmiques d'un pôle de l'œuf à

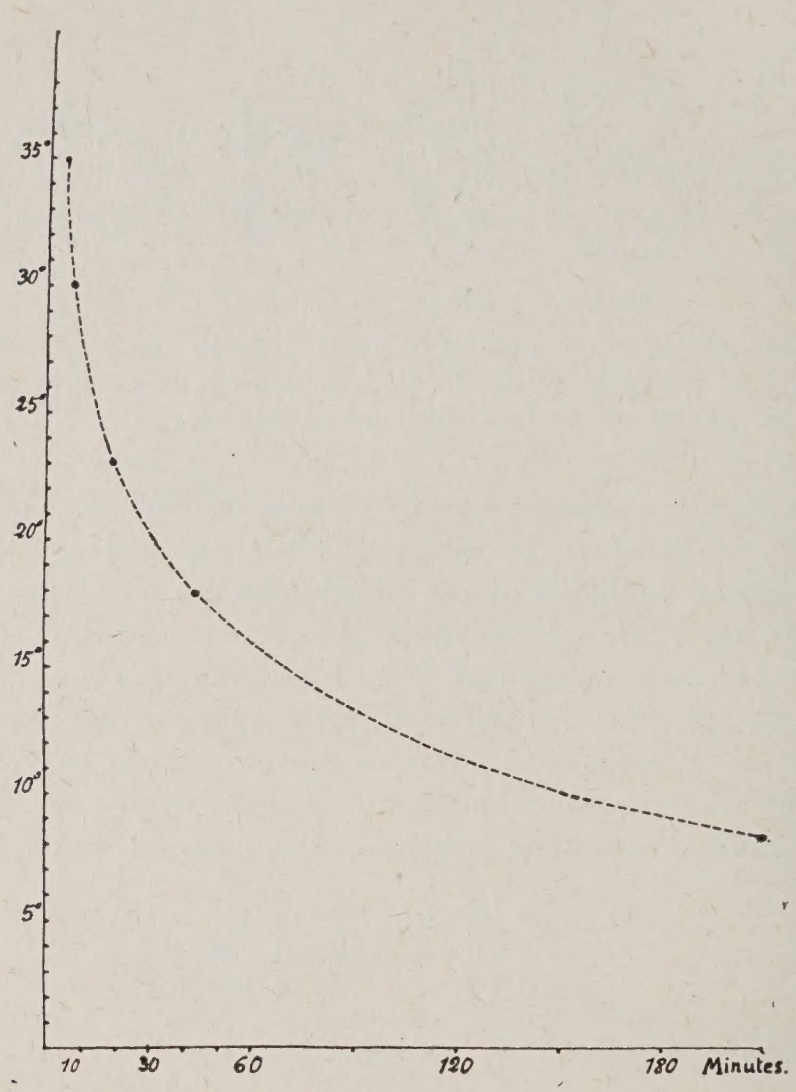


FIG. 24. — Variation de la viscosité protoplasmique en fonction de la température. Durée des vitesses de transport des granules de l'œuf d'*Ascaris* sous l'action de la force centrifuge.

l'autre. En fonction de la température (fig. 24), les temps trouvés ont les valeurs suivantes :

Température	Minutes
35°	4
30°	8
23°	20
18°	45
8°	225

La valeur du coefficient Q_{10} calculé pour les vitesses de déplacements correspondantes qui sont supposées inversement proportionnelles à la viscosité cytoplasmique varie seulement entre 5 et 5,8 et cette valeur élevée, sensiblement constante, pourrait expliquer le retard des phénomènes mécaniques de la division à basse température. La division cellulaire ne peut d'ailleurs s'effectuer que dans une échelle de température, limitée par deux valeurs, *critiques*, inférieure et supérieure, plus ou moins éloignées l'une de l'autre suivant l'espèce considérée ; quand on dépasse ces températures, la division est rendue impossible soit par la gélification cytoplasmique qui multiplie les astrosphères aux températures limites supérieures, soit par la disparition de ces éléments aux températures limites inférieures ; la notion de coefficient de température n'a plus aucun sens dans ce cas, et l'on voit en effet la valeur de Q_{10} tendre très rapidement vers $-\infty$ ou $+\infty$ lorsque l'on atteint ces zones limites.

Supposons maintenant que l'on veuille estimer l'énergie transformée pendant la division d'une cellule de taille connue, s'effectuant à une température moyenne et telle que le coefficient de température soit celui des réactions chimiques ordinaires. Quelle que soit la nature du travail fourni, mécanique ou chimique, interne ou externe, celui-ci s'accompagne d'une diminution correspondante de l'énergie interne du système cellulaire. Mais il est impossible de dissocier les phénomènes propres de la division cellulaire et ceux de la vie intercinétique, ce qui introduit de nouvelles difficultés dans ces problèmes ; si la cellule étudiée fait partie d'un tissu ou se trouve baignée dans un liquide nutritif, cette diminution peut être masquée par une augmentation due aux apports alimentaires qui élèvent le potentiel chimique cellulaire, et les mesures directes seront impossibles.

Dans le cas des œufs le problème se pose autrement ; l'œuf d'*Ascaris*, par exemple, est une cellule fermée à tout échange de matières autres que des gaz ; d'autre part, le milieu externe étant considérable par rapport à l'œuf, la chaleur dégagée au cours de la division diffuse aussitôt, et la transformation peut être considérée comme isotherme. Les combustions respiratoires vont brûler progressivement les réserves énergétiques de la cellule dont le potentiel diminue. Nous reviendrons plus loin sur les mesures faites avec la bombe calorimétrique qui permettent de calculer sur des lots d'œufs, exactement comparables, la chaleur de combustion avant la segmentation et après un certain stade de celle-ci. L'étude des échanges respiratoires permet de contrôler ces mesures et de constater si la variation d'énergie interne est régulière. Pour l'œuf d'*Ascaris* (Fauré-Fremiet 1913), l'énergie libérée pendant la segmentation semble assez cons-

tante par unité de temps pendant 3 jours à la température de 37° ; calculée pour la masse correspondant à 1 œuf, elle est sensiblement égale à 503.10^{-7} cal. ou 1680 ergs en 72 heures (1).

La durée de la première mitose est de 2 h. 15 minutes à cette température, soit 1/32 de la durée étudiée ; elle correspondrait donc approximativement à 12.10^{-7} cal., soit à 52 ergs environ.

Une méthode toute différente basée sur la notion du travail d'arrêt ou travail nécessaire pour s'opposer à la mitose, a été préconisée par Spaulding (1904). Fauré-Fremiet (1913) a tenté d'utiliser le travail photochimique d'arrêt dans les expériences faites avec Victor Henri et R. Wurmser à l'aide des rayons ultra-violets. Ceux-ci, pour les longueurs d'onde utilisées tout au moins, n'altèrent pas la structure de l'œuf, mais ralentissent les phénomènes du développement ; la valeur de ce ralentissement, qui peut atteindre l'infini, est considérée, en fonction de la durée d'irradiation, ou plus exactement de la quantité d'énergie rayonnée, comme une mesure de l'action de ces rayons. Celle-ci est nulle pour $\lambda = 2100$ Å et maximum pour $\lambda = 2800$ Å (2), donnée par l'étincelle du magnésium.

D'après les recherches de Victor Henri et R. Wurmser, la courbe d'absorption ou de susceptibilité photochimique de l'acétone et de divers aldéhydes présente un maximum autour de $\lambda = 2800$ Å ; ce fait serait en rapport avec l'existence de la liaison éthylénique, et des corps gras non saturés tels que l'acide oléique présentent le même caractère.

Si l'on utilise l'énergie la plus active, fournie par la longueur d'onde précédente, on constate qu'il faut 12.10^5 ergs par centimètre carré pour ralentir à l'infini le développement de l'œuf (arrêt). La surface irradiée étant égale pour 1 œuf à $2{,}3.10^{-5}$ cm³, l'énergie reçue par celui-ci est dans ce cas égale à $12 \times 2{,}3 = 27$ ergs. Mais l'arrêt du développement signifie seulement l'arrêt de la première mitose de segmentation.

Samassa a déjà obtenu cet arrêt en soumettant des œufs d'*Ascaris* à l'oxygène sous pression, c'est-à-dire en déterminant peut-être une oxydation brutale, inutilisable, par ce système organisé, de ses réserves énergétiques. Si les rayons U. V. de la longueur d'onde active agissent sur la liaison éthylénique des corps gras, le cas est comparable, et l'on peut admettre que l'énergie correspondant au travail de division de la première mitose a été compensée par cette énergie extérieure agissant sur les réserves. En effet, le chiffre de 27 ergs

(1) I Grande calorie = 423,5 kilogrammètres, soit en unités C. G. S. $415{,}5.10^8$ ergs = 1 Cal. et $415{,}5.10^5$ ergs = 1 cal. (petite calorie).

(2) L'unité Angström ou Å = 10^{-8} centimètre ou 1/10000 de μ.

obtenu par cette méthode d'arrêt est du même ordre de grandeur que le chiffre de 52 ergs obtenu d'après les chaleurs de combustion *et qui est certainement erroné par excès.*

Malheureusement, nous verrons que toutes les méthodes se basant sur l'énergie ou sur le travail d'arrêt sont passibles d'objections sérieuses, et que, dans le cas présent, l'analogie des chiffres est peut-être une coïncidence beaucoup plus qu'une vérification (1).

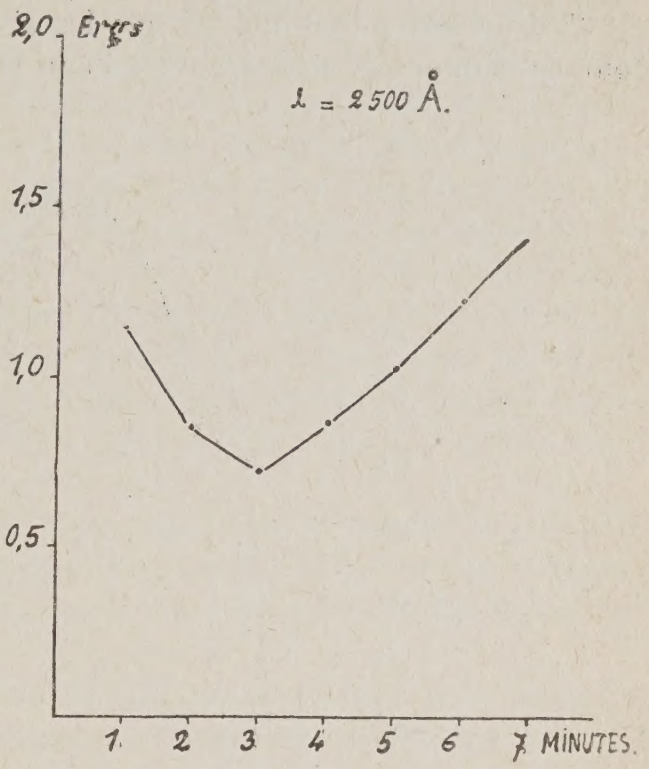


FIG. 25. — Quantités d'énergie nécessaires pour déterminer un retard de dix minutes en fonction de la durée d'irradiation.

D'autre part, même si ces chiffres mesurent le même phénomène, il n'est pas encore prouvé qu'ils soient comparables. En effet, si l'on cherche pour une radiation ultra-violette de λ donné quelle est la quantité d'énergie nécessaire pour déterminer en fonction du temps d'irradiation un retard constant de la division, on voit que cette quantité d'énergie est d'abord très grande pour un temps court, comme si en réduisant la durée d'irradiation on devait atteindre un seuil ; ensuite elle diminue, et passe par un minimum au delà duquel elle s'accroît.

Pour λ 2500 Å, les quantités d'énergie nécessaires pour produire un retard constant de 10 minutes varient avec la durée d'irradiation (fig. 25) de la manière suivante :

Durées d'irradiation	Ergs
1 minute	1,18
2 —	0,85
3 —	0,72
4 —	0,86
5 —	1,04
6 —	1,23
7 —	1,45

(1) Cependant VICTOR HENRI et R. WURMSER ont montré que l'énergie rayonnée nécessaire pour produire la décomposition de l'eau oxygénée est sensiblement égale à celle que libère cette décomposition.

On peut donc admettre que s'il existe une action photochimique sur les graisses non saturées, par exemple, le ralentissement de la vitesse de division est un phénomène complexe qui dépend :

1° de cette attaque photochimique des réserves ;

2° d'un autre facteur, tel que les processus normaux d'oxydation qui continuent à s'effectuer si l'action photochimique est faible et

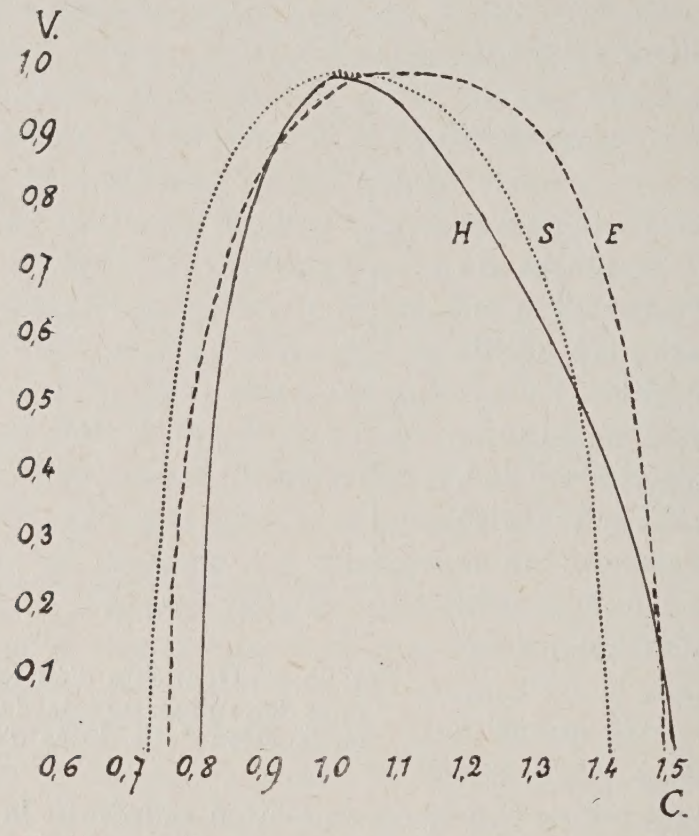


FIG. 26. — Vitesses de division en fonction de la concentration du milieu extérieur, la vitesse maximum étant prise comme unité.

H. *Sabellaria* à 20° jusqu'au stade II, d'après FAURÉ-FREMIET ; S. *Sphaerechinus granularis* à 22° du stade IV au stade blastula, d'après BIALASZEWICZ ; E. *Échinus microtuberculatus* à 12°, *idem*, *idem* ; V. Vitesses de 0 à 1 ; C. Concentrations osmotiquement actives.

qui libèrent de l'énergie en quantité suffisante pour compenser l'action des radiations U. V.

Remarquons enfin que l'action des rayons ultra-violets ne ralentit pas l'*achèvement* d'une mitose. VLÈS (1922), en effectuant par un procédé photométrique des estimations à intervalles très courts de l'émission de CO^2 par des œufs d'Oursin, montre que celle-ci est discontinue et devient presque nulle à la fin d'une division cellulaire. Si les mesures de VLÈS se rapportent bien *uniquement à l'acide carbonique*, comme il le suppose, il faudrait savoir si cette discontinuité exprime une varia-

tion de perméabilité ou un ralentissement des phénomènes respiratoires, ce qui demeure possible ; on sait encore que, d'après Demoor, une mitose commencée en présence d'oxygène peut se terminer en milieu anaérobie.

Il est donc possible que l'énergie correspondant au travail de division soit libérée toute entière dans les premiers stades de celle-ci, auquel cas le calcul effectué sur l'œuf d'*Ascaris* d'après les données calorimétriques et la durée totale de la mitose se trouverait faussé par excès.

On voit donc que tout reste encore à faire pour obtenir une mesure même approchée du travail de la division cellulaire, et les essais tentés sur l'œuf d'*Ascaris* n'ont d'autre valeur que celle d'une indication.

Nous avons dit que la notion du travail d'arrêt avait été préconisée par Spaulding (1907) ; ce travail d'arrêt est, dans ce cas, le travail osmotique capable d'équilibrer les transformations également osmotiques dont la cellule (œuf d'Échinoderme) est le siège au moment de la division.

Vlès et Dragoiu (1921) ont repris sur l'œuf d'Oursin ce procédé expérimental, et le calcul leur a donné, pour les premières mitoses, des chiffres notablement inférieurs à ceux des estimations faites sur l'*Ascaris*.

Nous reviendrons sur les bases théoriques de ce travail un peu plus loin (p. 138), et nous en résumerons d'abord les résultats essentiels.

Le travail est calculé d'après la relation $T = PV$ et le travail d'arrêt est $T = PV - P_0V_0$.

Une surpression osmotique externe de 11 atmosphères arrête la division cytoplasmique. En partant de cette pression *critique*, les volumes étant exprimés en cm³, et les pressions en Baryes (1), le calcul donne pour la première division 4,09 ergs (Spaulding avait trouvé 1,4).

En suivant plusieurs divisions successives, Vlès constate que le travail dépendrait du volume du blastomère qui se divise, et non de sa surface :

Volumes	Ergs	%
$47,7 \cdot 10^{-8}$ cm³	= 4,09	8,6
$16,7 \cdot 10^{-8}$ —	≤ 1,87	11,2
$7,78 \cdot 10^{-8}$ —	= 0,85	10,9
$2,64 \cdot 10^{-8}$ —	= 0,29	10,9

Ces chiffres traduisent une liaison du travail osmotique avec la masse cellulaire ou avec une masse active proportionnelle à celle-ci.

Bialaszewicz (1921) a montré que la vitesse de segmentation des œufs d'*Echinus microtuberculatus* et de *Strongylocentrotus lividus* est maximum pour une concentration osmotiquement active de

(1) Une Barye = 10^{-6} atmosphères.

1,059 mol. par litre (1) ; elle diminue progressivement pour les concentrations immédiatement supérieure et inférieure, et devient nulle pour $C = 0{,}718$ et $C = 1{,}420$ (*Strongylocentrotus* à la température de 20°) et pour $C = 0{,}740$ et $C = 1{,}500$ (*Echinus* à la température de 12°) Il en est de même pour l'œuf de *Sabellaria alveolata*, et Fauré-Fremiet (1924) constate que la vitesse de segmentation (stades II, IV et VI à la température de 20°) est maximum pour $C = 0{,}956$ à $0{,}995$, et tombe à zéro pour $C = 0{,}800$ et $C = 1{,}500$. En prenant pour unité la vitesse maximum, on peut comparer (fig. 26) les courbes très voisines relatives à ces différents œufs. On constate ainsi qu'en augmentant ou en diminuant la pression osmotique du milieu extérieur on augmente la durée du processus mitotique jusqu'à ce qu'il atteigne l'infini, auquel cas la division ne se produisant plus, l'œuf est « bloqué ».

On verra plus loin que, dans la zone des variations physiologiques de la concentration moléculaire du milieu, l'œuf de *Sabellaria* demeure suffisamment hémiperméable pour que les variations de son volume, défalcation faite du volume de ses substances sèches non osmotiquement actives, obéissent à la loi de Boyle-Mariotte à 3 % près; on trouve donc approximativement la relation :

$$PV = K, \text{ d'où } PV - P_0V_0 = 0.$$

Doit-on conclure, pour cet œuf, que le travail de division est nul (ce qui serait évidemment absurde) ou si faible qu'il serait de l'ordre des erreurs de mesures ? Il faut remarquer que les variations de pression osmotique du milieu n'agissent pas sur l'œuf à volume constant ; dans le cas de l'œuf de *Sabellaria* les variations compatibles avec l'accomplissement du processus mitotique déterminent une variation importante de la quantité d'eau protoplasmique, variation comprise entre 2,55 et 1,60 pour une partie de substances sèches, le chiffre normal étant 2,256. Cela veut dire que la concentration des substances sèches de l'œuf peut passer de 28,16 % pour la pression osmotique minimum, à 62,5 % pour la pression osmotique maximum.

Les variations des propriétés physiques des colloïdes protoplasmiques correspondant à ces variations de concentration ne s'opposent pas à l'existence de la figure achromatique, mais elles doivent en modifier profondément les possibilités de transformation, et le ralentissement du processus mitotique, puis son arrêt complet, peuvent dépendre partiellement tout au moins des variations de viscosité réalisées en fonction de la température. En d'autres termes, il est certain que les conditions mécaniques de la mitose sont modi-

(1). Concentration calculée par la formule de Raoult à partir du point de congélation.

fiées progessivement lorsque l'on augmente ou diminue l'hydratation protoplasmique en faisant varier la pression osmotique du milieu ; il devient alors difficile de calculer d'après les pressions limites observées la valeur du travail d'arrêt équilibrant le travail propre de la division cellulaire (1).

5. **Variations physico-chimiques du système cellulaire au cours de la division.** — Dans la période qui précède ou qui suit immédiatement la division, la cellule tout entière est le lieu de transformations réversibles : modification du degré d'hétérogénéité nucléaire, gélification, puis liquéfaction des colloïdes cytoplasmiques.

Ces transformations modifient activement la forme extérieure comme la structure interne de la cellule et l'on peut mettre en évidence un travail mécanique de division et une énergétique des transformations correspondantes.

Ce schéma, très général, montre que l'équilibre stable ou métastable que nous avons d'abord caractérisé entre les constituants cellulaires examinés pendant un temps très court, varie considérablement à certaines périodes ; il est très vraisemblable que *toutes les propriétés* physico-chimiques du cytoplasma doivent varier aussi, et de fait, en même temps que se produisent les transformations déjà citées qui ont pour résultat la formation des chromosomes et de la figure achromatique, on a pu constater que la viscosité, l'indice de réfraction, l'alcalinité, la charge électrique, la perméabilité de la masse cellulaire totale ou de l'un de ses constituants subit des variations réversibles importantes au cours de la mitose. Nous examinerons maintenant les documents un peu dispersés recueillis à ce sujet.

a) *Perméabilité.* — La perméabilité cellulaire à l'eau et aux subs-

---

(1) L'action d'une surpression osmotique détermine évidemment une variation de l'énergie interne que l'on pourrait calculer par l'équation : $\varepsilon = \int_{v_0}^{v_1} p dv$, mais rien ne prouve que pour la valeur limite correspondant à l'arrêt de la division cette variation de l'énergie interne mesure le travail de division.

Les observations cytologiques de Vlès et Dragoiu montrent, dans le cas de l'œuf d'Oursin, que l'arrêt de la division mitotique, sous l'influence d'une élévation de la pression osmotique du milieu, présente plusieurs stades qui « apparaissent suivant une succession régulièrement ordonnée dont la vitesse dépend de la pression ». Mais le temps pendant lequel l'œuf est soumis à une surpression déterminée joue aussi un rôle, et pour *un stade déterminé* la fonction $t = f(p)$ dessine une courbe hyperbolique très régulière ; le produit tp du temps par la pression serait donc un facteur important. Ces auteurs arrivent à la conclusion particulièrement intéressante que si l'on remplace la pression par une vitesse de diffusion v, on voit que le produit vt représente un débit, en sorte que l'on peut supposer « un apport ou un départ fixes et spécifiques d'une certaine quantité d'une substance inconnue, nécessaires pour la formation d'asters accessoires » comme pour l'apparition des différents stades ultérieurs. Et cette idée du déplacement quantitatif d'une substance X qui diffuse nous ramène précisément au problème des transformations physico-chimiques complexes du système cellulaire au cours de la division, et même à l'hypothèse de Della Valle citée plus haut.

tances dissoutes, gaz, molécules salines, ions, etc., peut être envisagée de diverses manières. Suivant les cas d'espèce, le corps cellulaire peut être recouvert d'une membrane différenciée, ou, plus fréquemment, se trouver directement au contact de l'eau. Nous avons vu que l'hypothèse d'Overton prévoit dans ce cas l'existence, discutée, d'une membrane lipoïde, et que les expériences de Chambers démontrent l'existence d'une couche superficielle semi-solide formée au contact de l'eau.

Dans le cas des oocytes et des œufs, qui vont surtout nous arrêter maintenant, les membranes proprement dites, chorions ou membranes vitellines, s'écartent généralement de la surface de l'œuf et comme elles sont très largement perméables (1), la couche cytoplasmique superficielle semi-solide se trouve directement en contact du milieu extérieur.

On peut supposer deux cas : ou bien cette couche superficielle se comporte comme une membrane vraie, et peut être hémiperméable ; nous pourrons alors étudier ses propriétés osmotiques à l'égard de l'eau et de différents corps solubles. Il faudrait d'ailleurs tenir compte de la charge de cette membrane, et des phénomènes d'osmose électrique.

Ou bien encore, dans une autre hypothèse, cette membrane importe peu et l'on doit envisager avant toute chose les propriétés de la masse totale des colloïdes cellulaires, dans laquelle les substances solubles pénètrent par diffusion avec des vitesses différentes. Comme cette masse est essentiellement hétérogène, le coefficient de partage des substances solubles prend une haute importance, et l'on doit aussi envisager avec Moore et Roaf, dans le cas des électrolytes, la formation de complexes ions-protéides pouvant déterminer une pression osmotique. Enfin tous les phénomènes d'adsorption sont à considérer, et l'on devra penser, par exemple, que l'action de certains cathions bivalents peut changer l'équilibre lipoïde + eau + protéides en donnant avec quelques corps des complexes ou des savons insolubles (2).

La perméabilité cellulaire et ses variations au cours du cycle de la mitose ont été d'abord étudiées sur des œufs d'Oursin par Lyon (1902-1904), Spaulding (1904), Mathews (1906), Lillie (1916). La conclusion de ce premier ensemble de travaux est que la perméabi-

(1) Sauf dans le cas toujours très spécial de l'œuf d'*Ascaris*.

(2) Citons seulement les travaux de Hofmeister (1889-1891) sur l'imbibition d'une plaque de gélatine ou d'agar et l'influence des sels ; de Victor Henri et Mayer (1903) sur l'action des électrolytes sur l'état des colloïdes, etc., etc. Ceux de Stiles, Stiles et Adair 1921 sur le coefficient de diffusion de quelques sels dans différentes gelées. Enfin les recherches de J. Loeb sur le point isoélectrique des colloïdes amphotères et es combinaisons de la gélatine avec les cathions ou les anions suivant la valeur du *p*H.

lité de l'œuf, considérée en général, n'est pas constante au cours de la division (1).

Herlant (1920), dans un mémoire aujourd'hui classique, a présenté une étude complète et systématique de cette question complexe.

A l'égard des sels, Herlant montre que les œufs d'Oursin peuvent se comporter de deux manières différentes si on les transporte dans une solution hypertonique. Ou bien les œufs diminuent de volume en se plissant *(plasmolyse)* ; dans ce cas ils perdent de l'eau et tendent à se mettre en équilibre osmotique avec le milieu ; leur couche superficielle fonctionne comme une membrane hémiperméable.

Ou bien l'œuf ne diminue pas de volume, ou si peu qu'il ne se plisse pas, ou seulement d'une manière fugace ; donc l'eau ne sort pas ; cela veut dire, soit que la couche périphérique ne laisse plus passer l'eau, soit qu'elle laisse pénétrer les sels jusqu'au rétablissement de l'équilibre osmotique avec le milieu. Cette dernière interprétation est la plus vraisemblable, car la pénétration du sel en excès se traduit brusquement par une désagrégation ou une précipitation du cytoplasma *(cytolyse)* (2).

Herlant emploie d'abord, comme solution hypertonique, le mélange suivant :

Eau de mer.....	100 cm³
NaCl 2,5 N.....	20 à 25 cm³

Les œufs sont placés dans cette solution à des intervalles de temps exactement déterminés à partir de la fécondation ; chaque lot se trouve dans un cristallisoir particulier et le nombre des œufs plasmolysés ou cytolysés étant compté, leur proportion est calculée pour 100.

Dans les premiers instants qui suivent la fécondation, Herlant trouve les chiffres suivants :

	Temps (secondes)	Pourcentage des œufs *plasmolysés*
	—	—
Fécondation.....	0	
—	30	80
—	60	50
—	90	20
—	120	5
—	150	5
—	180	0

(1) Voir au sujet de la perméabilité cellulaire Clowes (1916), Fissing (1915), Harvey (1911-13-14-15), Lepeschkin (1911), Macallum (1911), Ruhland (1910), Tchathotine (1921), Troudle (1920), Van Rijsselberghe (1901).

(2) Avant la fécondation, une mince membrane vitelline reste accolée à l'œuf, qui se hérisse de petites aspérités sous l'influence d'une solution hypertonique. Lorsque la « membrane de fécondation » est séparée, J. Loeb (1908) constate qu'elle demeure absolument perméable à l'eau et aux sels.

Donc trois minutes après la fécondation, tous les œufs sont perméables.

Herlant continue ses numérations en plaçant les œufs dans la solution hypertonique de 5 en 5 minutes. A la température de 17°-18° il constate que, entre la 5e et la 30e minute, on n'obtient plus de plasmolyse durable, mais celle-ci reparaît au moment du déclin de l'aster spermatique et se maintient jusqu'à la télophase (élongation de l'œuf).

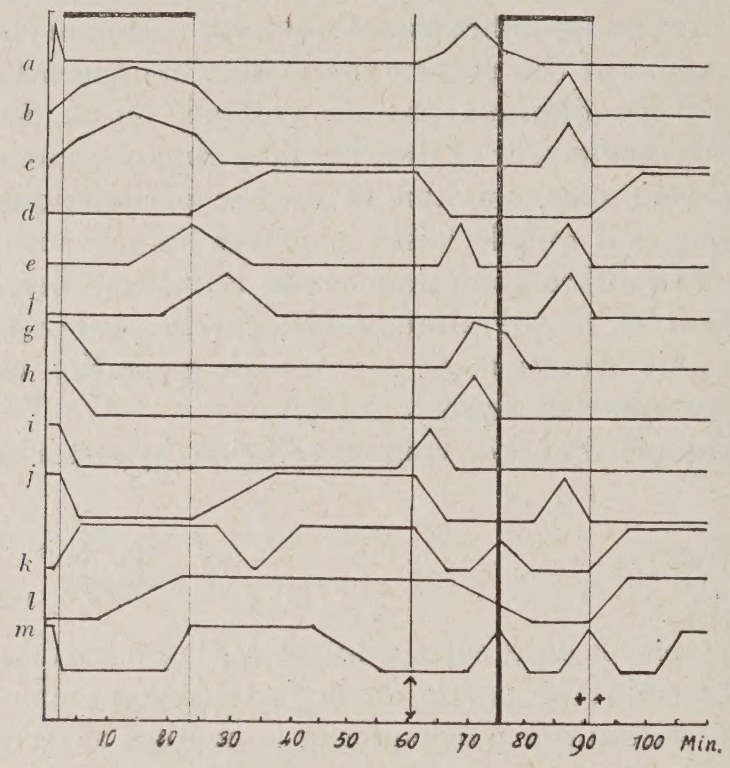


Fig. 27. — Variation de la perméabilité de l'œuf d'Oursin au cours du cycle de la première mitose, d'après Herlant.

Les tracés superposés représentent la variation de la proportion des œufs cytolysés sous l'action des corps suivants ; *a* Eau ; *b* Sels ; *c* Bases fortes ; *d* Ammoniaque ; *e* Acides forts ; *f* Acides gras ; *g* Ether ; *h* Alcool ; *i* Chloroforme ; *j* Chloral ; *k* Acétone ; *l* Saponine ; *m* Digitonine. La flèche (60e minute) indique la formation de l'aster ; la double (90e minute) la fin de la division. Température : 17 à 18°.

Après la séparation des blastomères et jusqu'à la fin de la deuxième mitose, la plasmolyse reparaît.

Il existe donc une phase d'*imperméabilité* aux sels pendant toute la durée de la mitose, depuis le déclin de l'aster spermatique jusqu'à la télophase.

Avec une solution plus concentrée :

Eau de mer	60 cm³
NaCl 2,5 N	40 cm³

on obtient rapidement la « cytolyse noire » dans les périodes où la plasmolyse n'apparaît pas (1).

Herlant expérimente ensuite avec des solutions ne contenant qu'un seul sel, par exemple :

NaCl 0,65 N.....	100 cm³
NaCl 2,5 N.....	50 cm³

En présence de NaCl ou de KCl pur, *la plasmolyse n'est jamais durable* ; donc la perméabilité de l'œuf demeure presque constante à l'égard de ces deux sels qui, à plus forte concentration, déterminent la cytolyse. L'adjonction de l'un de ces deux sels en quantité croissante à une eau de mer hypertonique *retarde peu à peu* l'apparition de la phase d'imperméabilité (ou plus exactement d'hémiperméabilité). Au contraire, l'adjonction graduelle de $CaCl^2$ ou de $MgCl^2$ accélère l'apparition de cette phase qui devient ainsi plus précoce.

Donc, les ions monovalents K *et* Na *augmentent la perméabilité de l'œuf, tandis que les ions bivalents* Mg *et* Ca *la diminuent.*

Mais $CaCl^2$ ou $MgCl^2$ en solution hypertonique pure *ne déterminent à aucun moment la plasmolyse.* Le volume de l'œuf ne varie pas, l'aster reste bien visible, la mitose ébauchée se poursuit jusqu'à la métaphase, on n'observe *jamais de cytolyse*, et après retour dans l'eau de mer le développement est normal. L'imperméabilité causée par ces deux cathions s'étendrait même à l'eau qui ne sort plus de l'œuf.

Les bases fortes KOH et NaOH $\frac{N}{10}$ à la dose de XXV gouttes pour 100 cc. d'eau de mer hypertonique artificielle (sans Mg) *augmentent la perméabilité* ; l'ammoniaque, base faible, n'accuse aucune variation.

Par contre les acides faibles, acétique et butyrique, *diminuent fortement la perméabilité*, et les acides forts, HCl, la diminuent légèrement (2).

Il existe donc des actions antagonistes à l'égard de la perméabilité cellulaire. Osterhout (1915 et 1916) et Mac Clendon (1916) ont signalé ces antagonismes ; Osterhout montre l'action parallèle des sels de K^+ de Na^+ et des ions OH^- d'une part, des sels de Ca^{++}, Mg^{++} et des ions H^+ de l'autre.

Lillie (1912, 1913 et 1914) examine une autre forme d'antagonisme, celle des sels et des anesthésiques, ces derniers protégeant la cellule contre l'action des sels de Na et de K en particulier.

---

(1) Lillie (1916) a noté que l'eau de mer hypertonique cytolyse les œufs à la fin de la phase de perméabilité (début du diaster).

(2) Herlant rappelle que les acides faibles de la série grasse augmentent les oxydations de l'œuf dans les expériences d'activation expérimentales, ce qui donne un aspect paradoxal au fait précédent.

Herlant montre que l'éther, le chloral, l'alcool, le chloroforme, le phényl-uréthane diminuent la perméabilité et favorisent la plasmolyse ; le cyanure de K agit de même. Cependant si la concentration de l'anesthésique est trop forte on obtient rapidement la cytolyse.

L'étude de la perméabilité de la cellule et de ses variations au cours du cycle de la division est peut-être particulièrement compliquée dans le cas de l'œuf d'Oursin. C'est bien en effet la perméabilité de la couche limitante qui est en jeu, mais les travaux de J. Loeb et surtout d Gray (1922), démontrent l'existence d'un colloïde électronégatif doué de pouvoir osmotique qui est situé entre la membrane de fécondation et la surface de l'œuf et d'une gelée électropositive au delà.

Les œufs d'Annélides se présentent dans des conditions plus simples ; Fauré-Fremiet (1922 et 1923) a examiné la perméabilité de l'œuf de *Sabellaria alveolata* par une méthode analogue à celle de Herlant.

Remarquons tout de suite que la chronologie des phénomènes de la maturation et de la fécondation n'est pas la même chez les Annélides et chez l'Oursin ; le tableau suivant résume les concordances :

Oursin	Maturation	Ponte	Fécondation	Segmentation	
Sabellaria		Ponte	Prématuration	Fécondation	Maturation	Segmentation

Sitôt pondu, l'œuf de *Sabellaria* ébauche sa première mitose de maturation qui ne peut s'achever qu'après la fécondation.

Il ne semble pas, à première vue, que cet œuf présente à l'égard de la perméabilité aux sels une variabilité comparable à celle de l'œuf d'Oursin. De plus, l'œuf placé dans une solution hypertonique *ne se plisse pas*, mais diminue de volume de façon si régulière que la simple mesure des deux diamètres rectangulaires, faite sur un grand nombre d'œufs placés dans la même solution, permet de calculer un *rayon moyen* et le volume de l'œuf, lequel peut être, sans erreur sensible, assimilé à une sphère.

On peut alors mesurer la variation de volume en fonction de la concentration moléculaire d'électrolytes et de non-électrolytes.

Le volume moyen de l'œuf normal dans l'eau de mer est : $15{,}15.10^{-8}$ cm³.

Dans des solutions de sucre de diverses concentrations, on obtient les valeurs suivantes :

Solution de sucre Δt	Volume moyen de l'œuf (en cm³)
— 0°,56	$34{,}4.10^{-8}$
— 1°,13	21,9 »
— 1°,76	15,25 »
— 2°,59	11,87 »
— 3°,73	9,95 »
— 5°,10 (1)	8,29 »

(1) A ces fortes concentrations les déterminations du Δ sont imprécises ; voir Lotz et Frazer (1921).

Tracée en fonction du point de congélation, la variation du volume dessine une courbe régulière. Voyons comment on peut l'interpréter.

En première approximation, on peut admettre que la variation du volume est due uniquement à une variation de la quantité d'eau

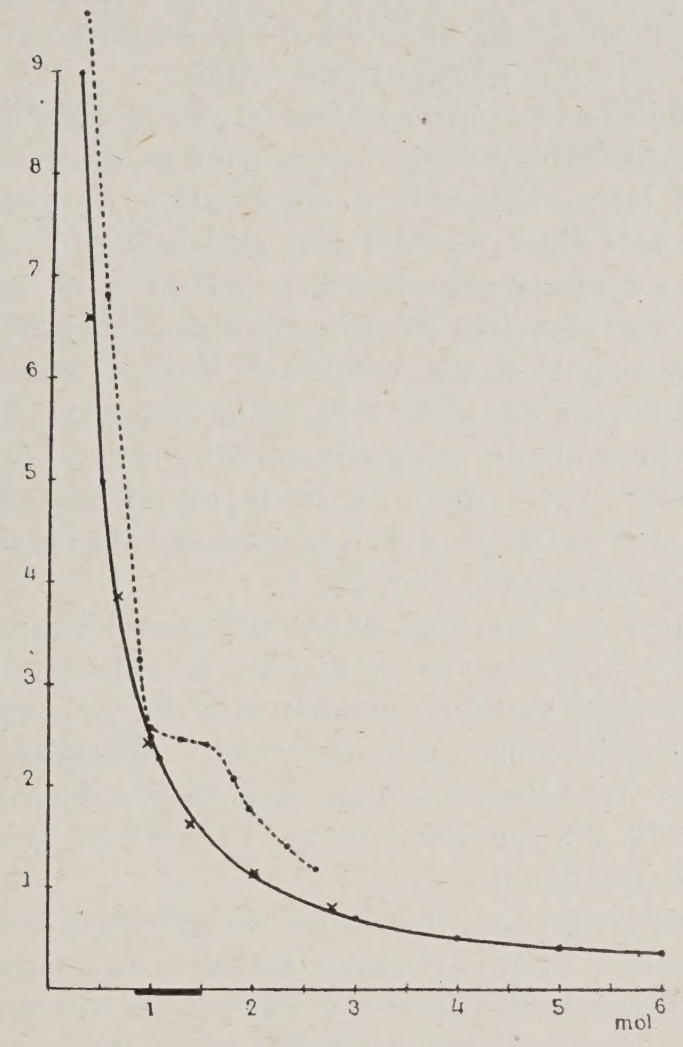


FIG. 28. — Variation de l'imbibition protoplasmique (en ordonnées) de l'œuf de *Sabellaria* en fonction de la concentration du milieu (en abcisses).

× = solution de sucre ; —·····— = solution d'urée ; —— = Courbe théorique correspondant à $cv = K$. Le trait fort sur l'axe des x indique la marge des concentrations compatibles avec un développement normal.

d'imbibition protoplasmique, et que les substances sèches de l'œuf ne varient pas.

L'œuf normal dans l'eau de mer normale contient pour 1 gramme de substances sèches 2,256 grammes d'eau. Nous admettrons encore que cette quantité d'eau représente une solution de concentration moléculaire active (molécules non dissociés et ions libres), telle que sa

pression osmotique soit égale à celle de l'eau de mer, puisque l'œuf est en équilibre et qu'une très faible variation de concentration fait varier son volume.

Cette concentration active étant alors de 1,1 par litre doit correspondre pour 2,256 grammes à $2{,}48.10^{-3}$ molécules et ions.

Si nous supposons cette quantité invariable nous pouvons calculer les variations de la quantité d'eau nécessaire pour obtenir toute une série de concentrations différentes.

Dans les conditions expérimentales, on arrive assez rapidement à des concentrations suffisamment fortes pour qu'il soit nécessaire de faire intervenir les variations de la dissociation. Cette correction ne peut être faite que d'une manière très approximative en négligeant les phénomènes d'adsorption en milieu colloïdal, et en ne tenant compte par exemple que des chlorures monovalents ; on peut faire ce calcul avec la constante de dissociation de NaCl, et corriger approximativement la courbe des variations de la quantité d'eau d'imbibition nécessaire pour que les pressions osmotiques internes et externes soient équilibrées. Cette quantité d'eau, étant toujours exprimée par rapport à une partie de substances sèches de l'œuf, représente l'imbibition protoplasmique (fig. 28).

Pour comparer les mesures expérimentales aux valeurs théoriques, il suffira toujours de soustraire le volume constant des substances sèches de l'œuf du volume total de celui-ci.

Si l'on compare la courbe des valeurs de l'imbibition en fonction de la concentration moléculaire des œufs placés dans une solution de saccharose (fig. 28), on constate que l'écart avec la courbe théorique est faible et négatif.

Dans la région inférieure, il coïncide sensiblement avec la correction de dissociation. Dans la région supérieure, on pourrait admettre qu'une légère diffusion centripète des électrolytes abaisserait la pression osmotique interne, l'œuf contenant moins d'eau que n'en prévoit le calcul.

La conclusion serait donc que l'œuf de *Sabellaria* est imperméable au sucre (1).

Tout au contraire, si les œufs sont placés dans une solution d'urée, la courbe coïncide d'abord (pour les faibles concentrations) avec la courbe théorique et présente ensuite un écart positif considérable (fig. 28). L'œuf est donc perméable à l'urée, comme le démontre par ailleurs l'apparition de vacuoles dans le cytoplasma.

Comparons maintenant l'action de différents chlorures ; avec le

(1) Voir Romker (1908).

cathion alcalin monovalent Na^+, l'écart d'imbibition réelle sur l'imbibition théorique (fig. 29) prend les valeurs suivantes :

	Concentration osmotiquement active (1) par litre	Ecart %
	—	—
NaCl	0,52	+17,6
—	1,02	+17,6
—	1,98	+ 6,0
—	2,90	+14,8
—	4,17	+75,0
—	5,50	+31,8 à 1488,0 (cytolyse)

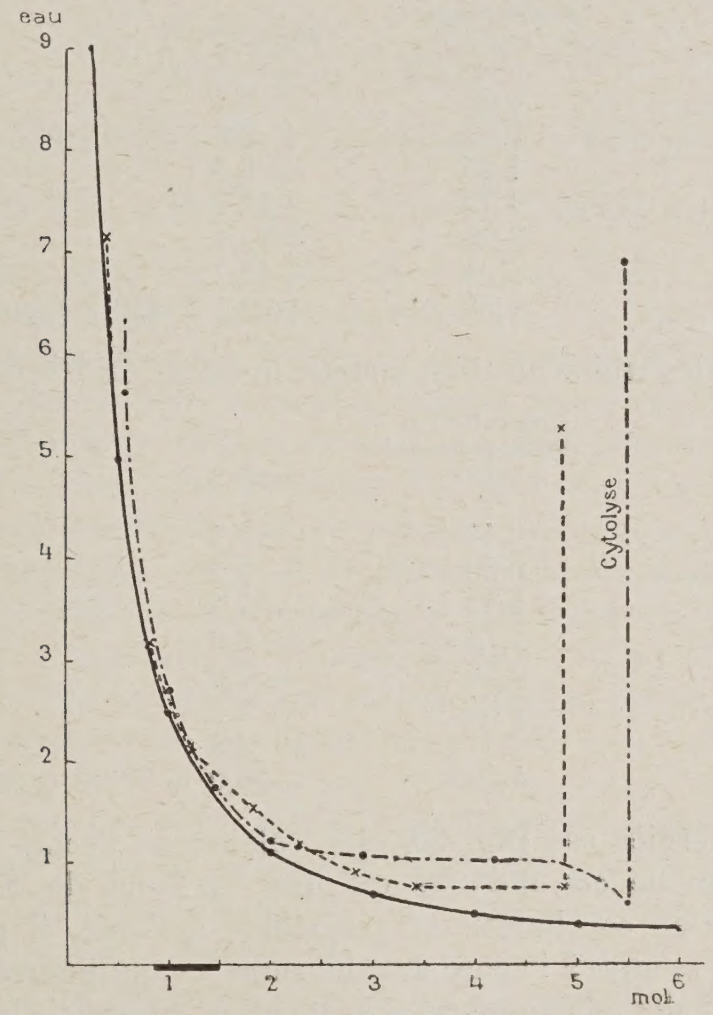


FIG. 29. — Variation de l'imbibition protoplasmique de l'œuf de *Sabellaria* en fonction de la concentration du milieu.
--- × -- = solution de $CaCl^2$; — · — · = solution de NaCl.
—— courbe théorique pour $CV = K$

Il semble donc : 1° que NaCl passe dans le cytoplasma de l'œuf en faible proportion, et contribue à élever sa concentration interne,

(1) Calculée d'après le point de congélation avec la formule de RAOULT.

d'où l'excédent positif de l'eau d'imbibition; mais, 2° que pour les fortes concentrations, les colloïdes cytoplasmiques ne peuvent perdre plus d'une certaine quantité d'eau, et que le déséquilibre osmotique n'est plus compensé avec le milieu extérieur. Enfin, 3° que, pour une certaine valeur de ce déséquilibre, NaCl passe en quantité importante dans le cytoplasma, d'où le gonflement brusque et la cytolyse.

Avec le cathion alcalin bivalent Mg^{++} nous trouvons des valeurs qui mettent en évidence un phénomène identique mais avec des écarts plus faibles :

	Concentration osmotiquement active	Écart %
	—	—
$MgCl^2$	0,33	— 7,7
—	0,84	+ 2,8
—	1,25	+ 6,3
—	1,72	+11,0
—	2,26	+12,1
—	2,94	+13,7
—	5,58	+19,3 à 429,2 (cytolyse)

Enfin avec le cathion alcalino-terreux bivalent, Ca^{++} nous trouvons :

	Concentration osmotiquement active	Ecart %
	—	—
$CaCl^2$	0,41 N	+17,7
—	0,80 —	— 0,6
—	1,22 —	+ 4,9
—	1,74 —	+ 8,9
—	2,26 —	+ 7,9
—	2,84 —	+ 4,9
—	3,44 —	+ 3,8
—	4,10 —	+25,0 à 723,0 (cytolyse)

Dans ce dernier cas (fig. 29), les valeurs de l'écart sont faibles. La conclusion de ces mesures est que, si l'œuf de *Sabellaria* est imperméable au saccharose et perméable à l'urée, il présente une perméabilité *relative* à l'égard des chlorures, ce qui pourrait s'expliqer d'ailleurs par des phénomènes d'adsorption superficielle ou par une légère diffusion.

D'autre part, dans l'ensemble, l'œuf obéit à la loi de Boyle-Mariotte, c'est-à-dire que toute une région de la courbe des variations volumétriques vérifie la loi $pv = K$ si v représente *seulement* le volume variable, c'est-à-dire celui de l'eau d'imbibition.

Enfin, aux fortes concentrations, on observerait une rétention d'eau par les colloïdes, et aux faibles concentrations une perméabilité plus grande ou l'influence d'un autre facteur.

On sait que Mayer et Schaeffer (1914) nomment imbibition maximum (ou I.M) dans l'eau distillée, la quantité totale d'eau qu'un tissu plongé dans ce liquide renouvelé peut retenir par gramme de substances sèches. On sait aussi que ces auteurs ont trouvé une valeur constante :

$$\text{I. M} \times \frac{1}{\text{coefficient lipocytique}} = \text{K},$$

la valeur de K étantcomprise pour nombre de tissus entre 0,60 et 0,65.

Pour l'œuf de *Sabellaria* le coefficient lipocytique

$$100 \frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}} = \frac{1{,}81}{16{,}49} = 10{,}9.$$

L'imbibition maximum dans l'eau distillée = 6,26 pour 1 de substances sèches, d'où $6{,}26 \times \frac{1}{10{,}9} = \text{K} = 0{,}57$, chiffre du même ordre que les valeurs trouvées par Mayer et Schaeffer.

Mais si l'on introduit les plus fortes valeurs de l'imbibition maximum obtenues dans les solutions faibles de chlorures ou d'urée, la valeur de K devient très différente et peut monter jusqu'à 0,92.

On peut d'ailleurs mettre en évidence des actions de surfaces très caractéristiques : en présence des ions monovalents alcalins Na^+ et K^+ *qui augmentent la perméabilité* de l'œuf d'Oursin, et qui donnent d'importants écarts d'imbibition chez l'œuf de *Sabellaria*, la surface de celui-ci se révèle fragile et diffluente ; en présence des ions bivalents, qui réduisent la perméabilité, Mg^{++} et surtout Ca^{++} et Ba^{++}, le cytoplasma garde un contour ferme et précis, même dans les solutions hypotoniques, et peut se résoudre en gouttelettes sans jamais diffluer.

L'antagonisme des sels signalés pour l'œuf d'Oursin existe aussi d'ailleurs pour l'œuf de *Sabellaria*, sans quoi celui-ci ne se gonflerait pas plus dans une solution de NaCl seul que dans l'eau de mer à concentration active également.

Insistons encore une fois sur le fait que les conditions de l'équilibre osmotique de l'œuf d'Oursin sont beaucoup plus complexes que celles trouvées pour l'œuf de *Sabellaria* ; 1° à cause de la complexité physico-chimique des enveloppes, et 2° à cause des grandes variations de la perméabilité au cours de la mitose.

Peut-on chez l'œuf de *Sabellaria* établir l'existence de variations semblables de la perméabilité aux sels ? Nullement. Tous les chiffres qui viennent d'être donnés et qui précisent suffisamment les propriétés osmotiques de ces œufs ont été obtenus sur des œufs fraîchement pondus, et les mesures de volumes effectuées dans une solution de

pression osmotique constante, avec des œufs d'âge différent, pris à des stades différents de la première mitose de maturation, ne montrent aucun écart systématique, en dehors de très faibles variations désordonnées de l'ordre des erreurs d'expériences.

On peut essayer d'amplifier de très faibles variations possibles en faisant ces mesures dans des solutions hypotoniques de $CaCl^2$

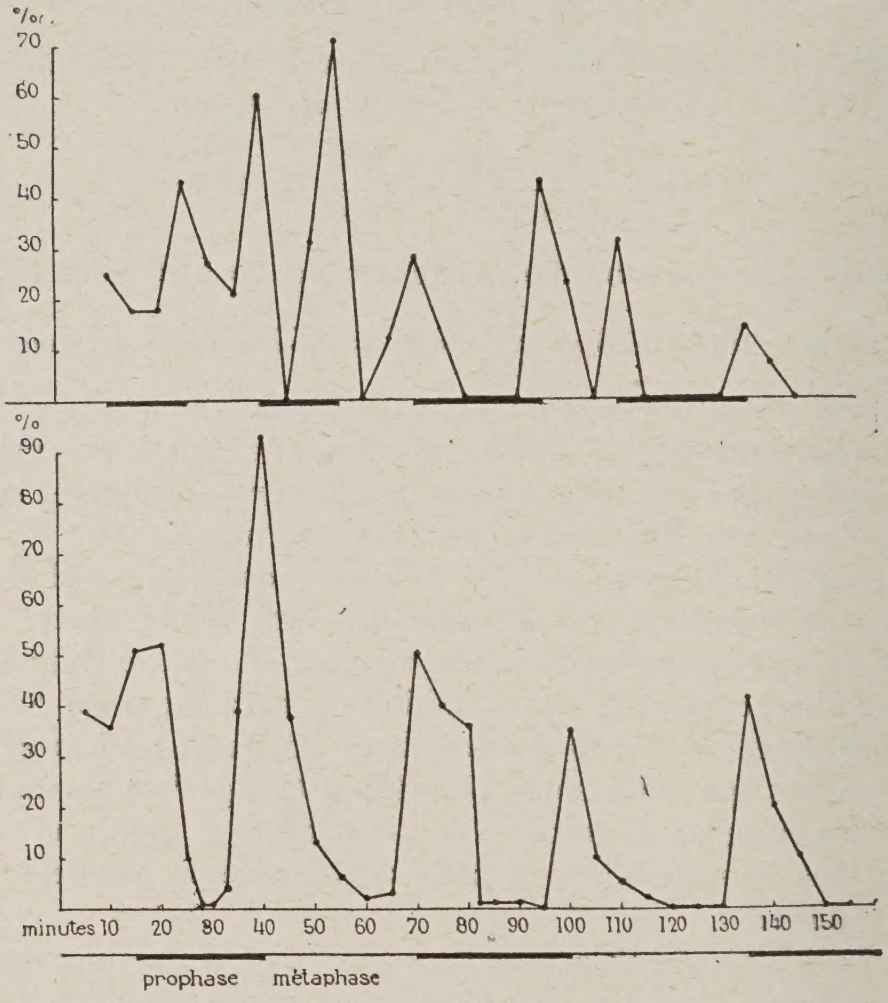


FIG. 30. — Variation de la sensibilité de l'œuf de *Sabellaria* aux solvants des graisses pendant le premier cycle mitotique; en ordonnées, nombre des œufs cytolysés 0/0; en abcisses, temps comptés en minutes. Les périodes du rythme sont indiquées sur l'axe des X.

0,507 N par exemple ; on obtient bien alors des variations périodiques, mais si faibles qu'il est impossible de les comparer aux phases de perméabilité ou d'imperméabilité si bien étudiés par HERLANT chez l'œuf d'Oursin.

b) *Sensibilité aux solvants des graisses.* — HERLANT a étudié, par la même méthode de numération des œufs en cytolyse, la perméabilité de l'œuf d'Oursin aux solvants des graisses. Nous avons déjà signalé l'antagonisme observé entre ces corps et les sels.

Spaulding (1904) a étudié l'action des solutions d'eau de mer renfermant 1/64 d'éther sur l'œuf d'*Arbacia* ; Herlant montre que l'œuf de *Paracentrotus* est plus résistant et supporte 3 à 5 cc. d'éther pour 100 cc. d'eau de mer. Il observe alors *deux périodes de sensibilité* ; la première sitôt après la fécondation, et la seconde au milieu de la mitose.

Avec le chloroforme, il note également deux périodes de sensibilité : l'une après la fécondation, et l'autre précédant immédiatement le stade diaster. L'alcool agit comme l'éther (fig. 27, p. 142).

L'hydrate de chloral et l'acétone agissent de manière inverse ; la période de sensibilité est comprise entre la fécondation et le début de la mitose, avec un petit relèvement vers le milieu de la division (fig. 27, p. 142).

Enfin quelques glucosides, capables de donner des combinaisons avec la cholestérine, agissent comme l'acétone et le chloral ; tels sont la digitaline et la saponine (1).

Chez *Sabellaria* (Fauré-Fremiet 1922-1924), l'éther, l'alcool et le chloroforme ont une action analogue. En utilisant une solution mixte dans l'eau de mer additionnée de violet dahlia, et en déterminant la solution pour laquelle un mélange d'œufs à différents stades donnera une proportion moyenne de cytolyse, on peut répéter exactement les expériences de Herlant et déterminer par la proportion pour cent des œufs cytolysés, les variations de leur sensibilité au cours de la première mitose de maturation. On trouve des variations très nettes qui s'effectuent suivant un rythme régulier ; à 21°-22° la période de ce rythme est en moyenne de 30 ou de 15 minutes, comme si elle pouvait se dédoubler (fig. 30). Il existe un grand maximum de sensibilité au début du stade de métaphase ; lorsque la première mitose de maturation est achevée, le rythme continue au niveau de la deuxième et de la première mitose de maturation, mais il s'atténue peu à peu (2).

Mathews (1913) pense que la différence de sensibilité marquée entre quelques œufs d'Echinodermes, tient à des différences dans leur teneur en lipoïdes divers. Clowes et Chambers (1922) comparant d'une part l'action des solutions de saponine et de digitaline, et de l'autre celle des solutions hypotoniques, montrent que la surface de différents œufs marins est plus riche en cholestérine que l'intérieur. Brinkmann et Von Dam (1920) estiment, d'après l'étude de la charge électrique des globules rouges et les phénomènes d'adsorp-

(1) Voir Baldwin (1920), Hausmann (1905).

(1) Le synchronisme initial disparaît très rapidement entre les œufs de *Sabellaria* provenant d'une même ponte.

tion, que les hématies *dans le plasma* sont entourées d'une couche isolante de cholestérine maintenue en solution colloïdale par la lécithine adsorbée.

C'est donc un retour à l'hypothèse d'Overton qu'indiquent ces travaux, et les variations de sensibilité au cours du cycle mitotique tiendraient aux variations de composition de la couche lipoïde. Czapek (1923) étudie les conditions théoriques de la formation de cette membrane, qu'il suppose hétérogène et formée de fines gouttelettes contiguës.

Herlant admet une autre interprétation ; pour lui, le cytoplasma de l'œuf d'Oursin serait, à la manière dont le conçoit Wilson, un dispersoïde biphasique comportant une phase aqueuse et une phase lipoïde.

Si la phase aqueuse est continue et la phase lipoïde dispersée, le cytoplasma est perméable aux sels et imperméable, ou mieux, insensible aux solvants des graisses.

Si, au contraire, la phase lipoïde est continue, le cytoplasma est imperméable aux sels et absorbe les solvants des graisses et les anesthésiques.

Il y aurait donc, à certaines phases de la mitose, un renversement du type de dispersion du système cytoplasmique.

Chez *Sabellaria*, la phase continue et aqueuse du cytoplasma présente des propriétés spéciales dues à la présence de lipoïdes dissous probablement sous forme de savons et de lécithines (1), et l'on peut démontrer que les solvants pénètrent toujours dans le cytoplasma ; mais le coefficient de partage de ces solvants, entre la phase aqueuse du cytoplasma et les inclusions graisseuses (phase lipoïde dispersée) est certainement variable. Lorsque l'œuf est au minimum de sensibilité, les globules graisseux se gonflent et *absorbent le violet dahlia* ; lorsqu'il est au maximum de sensibilité, tout au contraire, les globules graisseux se gonflent peu et ne se colorent pas, tandis que le cytoplasma se gonfle fortement en donnant des boules hyalines qui précèdent la cytolyse.

On peut donc supposer un équilibre physico-chimique entre les graisses neutres, les phosphatides, les savons, et des variations périodiques de cet équilibre au cours du cycle de la mitose (2).

c) *Sensibilité aux bases.* — Herlant montre, sur des œufs colorés *in vivo* par le rouge neutre, que la perméabilité du cytoplasma aux

(1) La présence de ceux-ci peut être démontrée, soit par l'étude microchimique, soit par l'analyse chimique.

(2) En présence d'acétone à la dose sensible, on ne peut déceler aucune variation périodique. L'acétone, solvant qui précipite les phosphatides, se classe donc à part ici comme chez l'œuf d'Oursin.

bases varie à l'inverse de la perméabilité aux sels ; le virage du rouge neutre apparaît peu après la fécondation, au moment de la période d'imperméabilité aux sels ; ultérieurement, une période de résistance est caractérisée, puis la perméabilité aux bases fortes reparaît au moment de l'élongation précédant la division de l'œuf. Il est possible que ces différences de perméabilité aux bases soient liées, elles aussi, à la distribution des substances lipoïdes dans le cytoplasma.

Les acides forts (HCl, NO^3H) déterminent la cytolyse 15 à 20 minutes après la fécondation, puis au début et à la fin de la mitose.

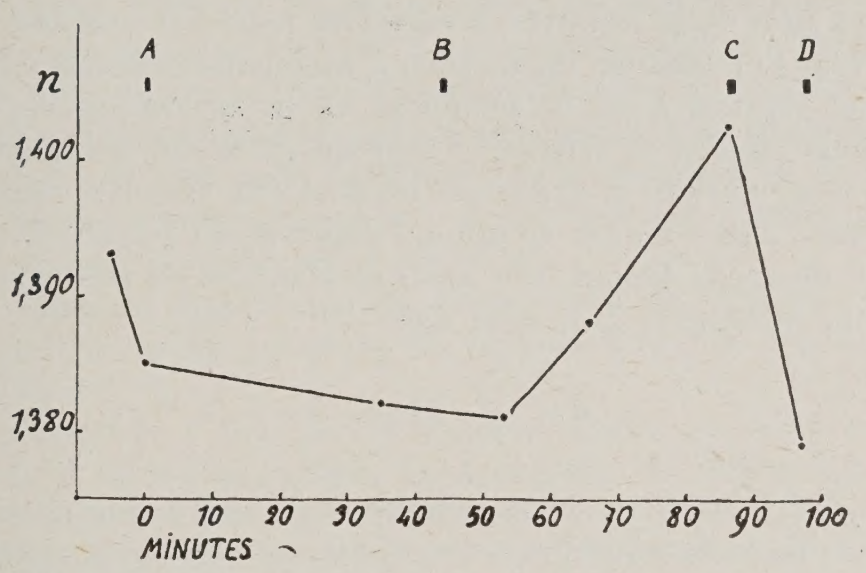


FIG. 31. — Variation de l'indice de réfraction de l'œuf d'Oursin au cours du cycle mitotique, d'après VLÈS.

A. Fécondation; B. Stade diaster; C. Fin de la phase d'hémiperméabilité; D. Bipartition de l'œuf.

d) *Variation de l'indice de réfraction.* — VLÈS (1921) a cherché une méthode permettant de mesurer l'indice de réfraction de l'œuf tout entier ; celui-ci est assimilé à une lentille sphérique ou ellipsoïde dont la distance focale est mesurée à l'aide de la vis micrométrique, d'après le déplacement nécessaire pour mettre successivement au point : 1° l'équateur de l'œuf et 2° l'image d'un objet éloigné : filament de lampe, croisillon d'une fenêtre, etc.

Soit F cette distance focale, r le rayon de courbure de la surface réfringente, n l'indice de réfraction, on a $\frac{1}{F} = (n - 1)\,\Sigma\left(\frac{1}{r}\right)$ et pour une sphère $n = \frac{r}{2F} + 1$.

L'indice relatif de la sphère par rapport au milieu qui l'entoure est $n = \frac{n_s}{n_0} = \frac{\text{indice de la sphère}}{\text{indice du milieu}}$.

Mais l'œuf et l'image sont observés *dans l'eau*, et il faut encore une correction pour éliminer l'erreur par réfraction. Si f est la distance focale observée, on trouve :

$$n_s = \frac{r}{2f} + n_o$$

r est toujours donné par une simple mesure micrométriques du diamètre de l'œuf si celui-ci est sphérique.

Les nombreuses mesures effectuées par Vlès montrent les faits suivants : à la température de 16°-17°, depuis la fécondation (temps 0) jusqu'à près de 45 minutes, n varie très peu et de manière inconstante ; vers l'apparition du diaster, n augmente nettement (1,7 %) ; n diminue ensuite avec le télophase et la séparation des blastomères, puis l'indice de réfraction reprend sa valeur primitive.

Dans une solution, il existe un rapport (en première approximation) entre l'indice n de la solution, l'indice n_0 du solvant, la concentration C du corps dissous, son poids moléculaire M, et la somme des réfractions atomiques ΣR_α telle que

$$n = \frac{C}{M} \Sigma R_\alpha + n_0.$$

Donc l'augmentation de n indique, soit une *augmentation* de la concentration moléculaire, soit une *diminution* du poids moléculaire.

Vlès constate que les variations normales du volume de l'œuf d'Oursin en cours de division sont trop faibles pour expliquer l'augmentation de concentration. Il admet, par contre, que le poids moléculaire moyen *n'est pas constant* et peut diminuer (scissions moléculaires).

Il faudrait donc chercher quel rapport existe entre ce phénomène et les changements d'état colloïdal observés par Chambers ; si d'autre part le poids moléculaire diminue, on doit enregistrer par d'autres méthodes une variation de la pression osmotique.

e) *Variation de la pression osmotique.* — Les travaux de Backmann et Runnström (1914) effectués sur l'œuf de Grenouille montrent une augmentation de la concentration interne de l'œuf au début du développement. Ce résultat pourrait être obtenu par le même mécanisme de scission moléculaire invoqué pour les variations de l'indice de réfraction, ou par un changement de l'état des colloïdes protoplasmiques libérant des ions primitivement adsorbés à la surface des micelles. L'hypothèse de Backmann permettrait de rapprocher plus étroitement ces observations de celles de Chambers.

Malheureusement, les mesures de la concentration moléculaire du milieu intérieur de l'œuf sont très délicates ; Backmann effectue

en effet des mesures cryosocopiques sur des œufs écrasés, et il n'est pas sûr que cette première opération ne détermine déjà quelque altération moléculaire (1).

f) *Variations de la viscosité.* — HEILBRUNN (1920-1921) estime les variations de la viscosité cytoplasmique au cours des processus mitotiques, en appliquant une méthode déjà utilisée par FAURÉ-FREMIET (1913) sur l'œuf d'*Ascaris* et par des botanistes tels que FRIEDL WEBER (1917-1918) c'est-à-dire en comparant les vitesses de déplacement des granules sous l'action de la force centrifuge.

Chez l'œuf d'Oursin, les changements de viscosité sont très marqués et nettement en rapport avec la gélification du cytoplasma ; le maximum de viscosité est atteint *juste avant* le stade amphiaster. La gélification est donc le facteur déterminant de la formation de l'amphiaster et non point le résultat de son apparition. Si d'ailleurs la gélification cytoplasmique est supprimée par l'action d'un facteur chimique, le fuseau ne se forme pas.

Les solutions hypertoniques augmentent la viscosité cytoplasmique et HEILBRUNN pense que la gélification est due à une soustraction d'eau.

Dans l'œuf de *Cumingia*, HEILBRUNN étudie les divisions de maturation et de segmentation. La formation du fuseau est *toujours précédée* d'une brusque augmentation de la viscosité ; celle-ci diminue sensiblement pendant la métaphase et subit un nouvel accroissement avant la séparation complète des cellules-filles.

Le même phénomène est observé chez l'œuf de *Nereis* mais les changements de viscosité sont moins marqués, ce qui tient peut-être au fait que la masse cytoplasmique est très importante par rapport à celle de la figure achromatique.

SEIFRIZ (1918-1920) avait déjà étudié les changements de viscosité de l'œuf et n'avait pas trouvé l'augmentation qui précède la division. HEILBRUNN considère cependant ce fait comme acquis, et pense que les observations de SEIFRIZ comportent une cause d'erreur.

D'autre part, CHAMBERS, par la méthode de microdissection, trouve que le maximum de viscosité correspond au stade amphiaster.

HEILBRUNN remarque avec raison que la viscosité proprement dite et la rigidité ou la semi-rigidité, qui caractérise la gélification du cytoplasma, sont deux choses distinctes que CHAMBERS confond. En réalité, tout le cytoplasma ne se gélifie pas lorsque l'amphiaster se constitue, et le début de cette gélification s'accompagne d'un accroissement de viscosité des colloïdes. Tout au contraire, lorsque la gélification est à son maximum au niveau de la figure achroma-

(1) Voir aussi HOUSSAYE (1898) et CHODAT (1906).

tique, le reste du cytoplasma redevient fluide et moins visqueux. A. Mayer (1902 et 1907) a montré que, au cours de la coagulation ou de la précipitation des colloïdes, on constate une augmentation de viscosité de la liqueur avant tout aspect de floculation décelable par l'éclairage ultra-microscopique ; ce fait est d'accord avec les recherches de Cervello et Pitini, Starke, Cesana.

Chez l'œuf de Grenouille, Odquist (1922) constate, en utilisant la méthode de centrifugation, une agmentation de viscosité protoplasmique au début de chaque division de segmentation.

g) *Variation du pH intérieur.* — Il est vraisemblable que les changements d'état des colloïdes cytoplasmiques mis en lumière par toutes les expériences précédentes, s'accompagnent de variations de la réaction du milieu cellulaire interne. Celle-ci, nous l'avons vu, est impossible à mesurer exactement ; en faisant la part des difficultés inhérentes à l'emploi des colorants vitaux, on peut cependant en comparer les résultats ; chez l'œuf de *Sabellaria*, Fauré-Fremiet (1924) a trouvé *approximativement* les valeurs suivantes du pH cytoplasmique :

Temps après la ponte (minutes)	Stade	Colorant utilisé	*p*H
0 à 5...	Œuf polygonal.....	Rouge neutre.....	≤ 7
25	Résolution de la vésicule germinative...	Chlor. Bl. de Nil.....	$=10$
25 à 30.	Premier fuseau.....	Chlor. Bl. de Nil.....	>11
30 à 45.	Métaphase.....	Bl. de crésyl brillant.	$=11,5$
40 à 50.	»	Bl. de crésyl brillant.	$\leq 12,0$

Après la fécondation et pendant l'émission des globules polaires, l'œuf redevient sensiblement neutre. Chez l'œuf d'Oursin, Vlès et Nouel (1922) notent au contraire une valeur faible du pH cytoplasmique, soit 5,5 à 6,0 environ, en rapport avec l'accumulation de CO^2 ; mais cette valeur doit également varier au cours des processus de la division, vers la fin de laquelle le même auteur (1921) observe l'émission brusque d'une quantité appréciable de CO^2.

h) *Variation de la charge électrique.* — L'augmentation de l'alcalinité de l'œuf de *Sabellaria* au cours de la première mitose de maturation indique une prédominance marquée des ions OH^- ; Fauré-Fremiet (1923) a examiné comment se comporte l'œuf lorsque, immergé dans un milieu non électrolyte, il est soumis à un champ électrique.

Le milieu utilisé était constitué par les deux solutions suivantes (dans l'eau distillée) :

Saccharose	$\Delta = -2,002$.....	2 parties
Urée	$\Delta = -2,007$.....	3 parties

La densité à 20° était de 1,08, supérieure à celle de l'eau de mer et sensiblement égale à celle des œufs. Cette solution n'était pas totalement dépourvue d'électrolytes, et son pH était voisin de 8. L'intensité du champ atteignait 6 à 12 volts par centimètre.

Les œufs fraîchement pondus demeurent immobiles dans ce champ ; mais à mesure que la figure achromatique de la première mitose se développe et que l'alcalinité interne augmente, l'œuf proprement dit se dirige vers l'anode +, tandis que la membrane se dirige, plus lentement, vers la cathode —. La masse protoplasmique de l'œuf possède ainsi une charge électronégative et les variations de celle-ci, mesurées par la vitesse de déplacement à l'intérieur de la membrane, montrent qu'elle *augmente comme l'alcalinité du cytoplasma.*

Lillie (1911) cherche à relier les phénomènes de perméabilité et de division cellulaire. Les membranes externes ou internes présenteraient une perméabilité inégale pour les anions et les cathions ; les électrolytes entre lesquels ces membranes sont interposées arriveraient ainsi à présenter, du fait des diffusions ioniques *non compensées*, une différence de potentiel. La possibilité pour les colloïdes amphotères d'entrer en combinaison avec un radical positif ou négatif est également considérée ; les recherches de J. Loeb ont précisé quelques données de ce problème.

Le problème de l'état électrique de la cellule, tout particulièrement au moment de la division, a provoqué de nombreuses recherches théoriques et expérimentales, dont nous ne ferons que signaler quelques-unes. L'influence de l'adsorption des cathions polyvalents par la surface celllulaire a été étudiée par Höber (1904) sur les globules rouges dont le signe global peut changer. Ces recherches se rattachent à celles de P. Girard, P. Girard et Mestrezat (1922), P. Girard et Fauré-Fremiet sur l'osmose électrique à travers les tissus et les membranes vivantes, et aussi à celles de Mlle Choucroun (1923) sur les colloïdes.

La charge propre de certains éléments cellulaires, les chromosomes en particulier, a été étudiée par Pentimali (1909), Mac Clendon (1910), A. Gallardo (1909, 1911). Della Valle a critiqué les expériences de ces auteurs.

Pentimali admet que la charge négative de la chromatine augmente au cours de la mitose, et serait maximum au stade de plaque équatoriale. Mac Clendon, opérant comme Pentimali sur des cellules végétales, trouve que la substanc ebasophile du noyau *au repos* s'accumule déjà vers l'anode +. *Les chromosomes ne se déplacent pas plus vite que les autres différenciations cellulaires*, et toute la figure de mitose est entraînée en bloc ; mais cela signifie peut-être tout simplement, et nous l'avons déjà supposé, que la figure achromatique est semi-rigide.

Toutes les interprétations possibles de ces faits, trop peu nombreux, ont été discutées pour servir de base à une théorie électrique de la division mitotique dont on trouvera d'excellents résumés dans les articles de Gallardo (1912), Delage (1907 et 1908), Prenant (1910).

Della Valle pense qu'il est difficile d'utiliser ces documents si l'on ne connaît pas la vitesse de déplacement des particules dont on étudie la charge. Soit U cette vitesse, E la différence de potentiel entre la phase dispersée et le milieu de dispersion, H la différence de potentiel du champ par centimètre, D la constante diélectrique du milieu de dispersion, η la viscosité de ce milieu ; ces valeurs sont liées par la relation suivante :

$$U = \frac{EHD}{4\pi\eta}.$$

On voit aussitôt que les caractéristiques physiques du cytoplasma actuellement mesurables sont trop peu nombreuses pour permettre l'application de cette formule simple (1).

i) *Variation de la tension superficielle.* — Bütschli (1876) avait déjà pensé que la tension superficielle joue un rôle dans les phénomènes de la division cellulaire. Il supposait que la tension *s'accroît* dans la région équatoriale de la cellule au moment de la bipartition.

Robertson (1909) soutient la thèse inverse parce que, si l'équateur était la zone des fortes tensions, il serait aussi une zone de forte courbure et la cellule devrait subir un aplatissement polaire et devenir discoïde, ce qui est absurde. Ces deux conceptions négligent totalement la mécanique interne de la cellule, surtout quand elle s'applique à la division mitotique (page 125) ; comme le remarque Gray (1922), l'aspect du sillon de division résulte de l'équilibre entre les mouvements protoplasmiques internes et la tension de surface cellulaire, de sorte qu'il n'est point nécessaire de supposer une différence entre les régions polaires et équatoriales de la cellule.

Cependant des variations de tension superficielles existent certainement au cours de la division et jouent probablement un rôle, surtout dans la division directe, et aussi pendant la formation des globules polaires de l'œuf ; c'est à ce titre que nous devons examiner ici les discussions qui ont porté sur ce sujet.

L'hypothèse de Robertson est complexe ; elle suppose le noyau déjà divisé et admet encore, d'après l'hypothèse de Loeb sur la synthèse des nucléines, que les lécithines sont hydrolysées et que la choline est mise en liberté de ce fait ; or la choline abaisse la tension

(1) Voir aussi Errera (1890), Rossi (1896), Kite (1913), Anonyme : contribution, etc. (1914) et Meier (1921).

superficielle. Si la cellule est sphérique et le noyau unique et central, le gradient de diffusion à partir du noyau est égal suivant tous les rayons et la choline se répartit également sur toute la surface.

Si la cellule est allongée, avec deux noyaux, il existera deux centres de diffusion, et la tension superficielle se trouvera inégalement abaissée. On aura deux zones polaires de tension peu diminuée et de forte courbure, et une zone équatoriale où les substances diffusées par les deux noyaux s'ajoutent et où la tension est fortement abaissée ; la bipartition s'ensuit ainsi que des courants protoplasmiques se dirigeant de l'équateur vers les pôles et déjà signalés par Loeb (1895), Erlanger (1897), Conklin (1898).

Robertson institue l'expérience suivante : une goutte d'huile étalée *sur l'eau* étant touchée avec un fil mouillé par une solution basique, il se forme au point de contact des savons qui abaissent la tension superficielle et la goutte se divise. Si le fil est imprégné de choline, le phénomène est identique.

Mac Clendon (1910) trouve ce schéma trop complexe, car la goutte flottante suppose trois surfaces . eau-air, huile-air et huile-eau. Il y a équilibre si la composante eau-air est égale à la composante horizontale huile-air + huile-eau. L'introduction du fil mouillé donne en plus, au point où le fil touche l'eau, les composantes savon-air et savon-eau.

Mac Clendon utilise une goutte d'huile sphérique immergée dans un mélange eau + alcool de même densité. Le savon est introduit au niveau de la goutte à l'aide d'une pipette capillaire ; la surface de la goutte se gonfle *vers le savon*, et la division n'a pas lieu, ce qui vérifie l'hypothèse de Bütschli.

Robertson réplique que l'alcool modifie du tout au tout les conditions expérimentales ; une goutte d'un mélange huile + chloroforme en équilibre dans l'eau se divise comme la goutte étalée à la surface, mais Mac Clendon ne réussit cette expérience nouvelle qu'en amenant le savon ou un peu de soude *simultanément* aux deux pôles.

Devant cette nouvelle critique, Robertson fait appel à la thermodynamique ; soit T l'énergie de surface et $4\pi R^2$ la surface. L'énergie potentielle $= T\,4\pi R^2$; comme le volume ne varie pas pendant la division de la goutte, il n'y a pas de travail à l'extérieur et le seul travail fourni est en rapport avec la cohésion de l'huile.

Le volume de chacune des deux gouttes formées est $\frac{4}{6}\pi R^3$ mais la surface totale est devenue $\frac{8\pi R^2}{2\,\frac{3}{2}}$. Elle a donc augmenté, et l'éner-

gie potentielle de surface s'est accrue, ce qui est contraire au deuxième principe de la thermodynamique.

Il faut admettre devant cette impossibilité que, si la surface s'accroît, la tension superficielle moyenne *doit diminuer*. Les deux auteurs sont d'accord sur ce point, mais Robertson juge contraire aux lois de la cohésion que les régions polaires, zones des courbures positives, puissent être en même temps celles des basses tensions.

Peut-être faut-il remarquer devant cette interminable discussion théorique *que la cellule transforme de l'énergie et n'est pas une goutte d'huile*. Malheureusement, les mesures de tension superficielle cellulaire en valeurs absolues sont actuellement illusoires (1). Dans le cas très simple d'un liquide au contact de l'air, la tension superficielle d'une goutte équilibre le poids de celle-ci, d'où la possibilité de mesures. Dans le cas d'un liquide au contact d'un autre liquide, les difficultés deviennent plus sérieuses. Si une cellule croissait (sans membrane différenciée) au delà d'une certaine dimension, il serait possible que la tension superficielle n'équilibre plus sa masse, mais un tel cas n'a pas été étudié semble-t-il.

On peut bien introduire dans l'eau baignant une cellule quelques substances abaissant la tension superficielle. L'œuf de *Sabellaria* se prête à ces expériences, et l'on obtient des variations de courbure, au moment du pointement des globules polaires. Mais une substance abaissant la tension superficielle est fatalement adsorbée à la surface du cytoplasma et peut déterminer secondairement un début de cytolyse.

Le cas étudié par Max Verworn des mouvements pseudopodiques d'une Amibe soumise au courant électrique n'est pas moins complexe.

Notons enfin, en faveur de l'hypothèse de Bütschli et Mac Clendon que le cytoplasma difflue au point où la tension superficielle est localement abaissée, et forme *une hernie* avant de s'écouler au dehors, en donnant l'*apparence d'une zone à forte courbure*. C'est l'interprétation qu'admet Spek (1918) en examinant des gouttes d'huile ou de mercure, et des œufs de Nématodes. Spek étudie surtout les courants internes, et montre :

1° Qu'il existe un courant *axial* dirigé vers les zones de basse tension ;

2° Qu'à partir de l'extrémité, ce courant s'étale en nappe, remonte le long de la surface vers la région de forte tension, puis s'infléchit vers l'intérieur. C'est précisément ce que vérifie l'observation *in*

(1) Cependant Vlès a tenté d'aborder directement ce problème par une technique ingénieuse.

vivo des œufs de Nématodes. La formation des globules polaires s'expliquerait par une *diminution localisée* de la tension superficielle à l'extrémité aiguë du pointement, la base étant au contraire le lieu d'une tension plus élevée.

Chevroton et Vlès (1911) ont pu déceler par l'étude cinématographique accélérée de la segmentation de l'œuf d'Oursin, des mouvements superficiels analogues à des vagues, qui traduisent certainement des variations locales, mais désordonnées, de la tension superficielle au début de la première mitose.

Les nombreuses discussions relatives aux quelques faits étudiés montrent à quel point les phénomènes intimes de la division cellulaire sont complexes. En premier lieu, il existe des déformations mécaniques, sur lesquelles nous avons déjà insisté, et qui résultent de la croissance des masses semi-rigides, constituant la figure achromatique. En second lieu, la tension de surface ne peut être mesurée au contact d'une cellule et la notion de tension superficielle est très difficile à séparer de celle de *cohésion* ; or la cohésion du cytoplasma varie sans doute considérablement en même temps que sa viscosité et sa consistance.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE III

Anonyme, 1914. Contribution from the anatomical department of Cornell University. Med. College. On the electric charge of the Protoplasm and other Substances in living Cells (*Public. of Cornell Univ. Med. Coll.*, vol. V).

Backmann et Runnström, 1912. Der osmotische Druck während der Embryonalentwicklung von *Rana temporaria* (*Arch. f. die Ges. Phys.*, Bd. 144, p. 287).

Baldwin, 1920. Susceptible and resistant phases of the dividing Sea Urchin egg when subjected to various concentrations of lipoid-soluble substances, especially the higher alcohols (*Biol. Bull.*, t. XXXVIII, p. 123, 140).

Bataillon, 1904. Nouveaux essais de parthénogenèse expérimentale chez les Vertébrés inférieurs (*Rana fusca* et *Petromyzon Planeri*) (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XVIII, p. 1).

Bataillon, 1910. Contribution à l'analyse expérimentale des phénomènes karyocinétiques chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXX, p. 24, 44).

Bataillon, 1914. La conductivité électrique chez les œufs d'Anoures vierges, activés ou fécondés (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVIII).

Bialaszewicz, 1921. L'influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons (*Trav. Lab. Phys. Inst. M. Nencki. Soc. Sc., Varsovie*, t. XI, n° 7).

Boveri, 1887. Ueber den Antheil des Spermatozoon an der Teilung des Eies (*Sitzungsber. des Ges. f. Morph. u. Physiol. Münschen.*, Bd. II).

Boveri, 1895. Ueber die Befruchtung und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigel-Eier und über die Möglichkeit ihrer Bastardirung (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. II, p. 394, 443).

Brachet, 1915. Sur l'évolution cyclique du cytoplasma de l'œuf activé (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLVI, p. 359).

Brachet, 1917. *L'œuf et les facteurs de l'ontogenèse* (Paris, Doin éditeur).

Brachet, 1922. Recherches sur la fécondation prématurée de l'œuf d'Oursin (*Arch. de Biol.*, t. XXXII).

Brinkmann et Von Dam, 1920. Importance de la cholestérine pour les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. CVIII, p. 52 ; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, t. XXXII, p. 358).

Bütschli, 1893. Ueber eine künstliche Nachahmung der karyokinetischen Figur (*Verh. d. nat. med. Ges. Heidelberg*).

Chabry, 1887. Contribution à l'embryologie normale et pathologique des Ascidies simples (*Journ. de l'Anat. et physiol.*, t. XXIII, p. 167).

Chambers, 1917. Microdissection studies. I. The structure of Cell Protoplasm and Death changes (*Amer. Journ. of Phys.*, vol. XLIII, n° 1, p. 1).

Chambers, 1917, II. The cellaster — a reversible gelation phenomenon (*Journ. of Exp. Zool.*, vol. XXIII, p. 483).

Chambers, 1918. Report on results obtained from the microdissection of certain cells (*Roy. Soc. of Canada*, Serie 3, vol. XII).

Chambers, 1918, Some studies on the surface layer in the living egg cell (*Soc. of Exp. Biol. et Med.*, t. XVII, p. 41, 43).

Chambers, 1918. The Microvivisection method (*Biol. Bull.*, vol. XXXIV, n° 2).

Chambers, 1919. Changes in protoplasmic consistency and their relation to cell division (*Journ. of Gen. Physiol.*, vol. II, p. 49, 58).

Chambers, 1921. The formation of the aster in artificial parthenogenesis (*Journ. of Gen. Physiol.* vol. IV, n° 1, p. 33).

Chevroton et Vlès, 1911. La cinématographie du développement embryonnaire de l'Oursin (*Arch. Zool. Exp. et Gen.*, 5e série, t. VIII, p. 449).

Chodat, 1906. Sur la régulation osmotique pendant la caryocinèse (*Bull. de l'Herb. Boissier*, t. VI, p. 511).

Choucroun, 1923. Electrisation d'adsorption. Colloïdes et membranes. (*Thèse*, Paris, et *Journ. de Chimie Phys.*).

Clowes, 1916. Protoplasmic equilibrium. I. Action of antagonistic electrolytes on emulsions and living cells (*Journ. Phys. chim.*, vol. XX, p. 407).

Clowes, Chambers et Page, 1922. Sur les variations physiques et chimiques dans la comparaison des parties internes et superficielles du protoplasma (*Journ. Biol. Chem.*, t. L, *Proc. Am. Soc. Biol. Chem.*, t. XLIX).

Comandon et Jolly, 1917-1918. Etude cinématographique de la division cellulaire (*Journ. Path. et Phys. Gén.*, t. XVII).

Dalcq, 1923. Recherches sur la physiologie de l'œuf en maturation (*Arch. Biol.* t. XXXIII, p. 79).

Dehorne, 1911. Recherches sur la division de la cellule (*Arch. de Zool. Exp.*, 5e série, t. IX, p. 1, 175).

Delage, 1907. La parthénogenèse expérimentale et les propriétés des solutions électrolytiques (*Riv. di Scienza*, t. II, p. 55, 105).

Delage, 1908. Sur le mode d'action de l'électricité dans la parthénogenèse électrique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLII, p. 1373, 1378).

Delage, 1908. La parthénogenèse expérimentale par les charges électriques (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLII, p. 553, 557).

Della Valle, 1909. L'organizazione della chromatina studiata mediante il numero dei cromosomi (*Arch. Zool.*, vol. IV).

DELLA VALLE, 1911. La continuità delle forme di divisione nucleare e il valore morphologico dei cromosomi (*Arch. Zool.*, vol. V).

DELLA VALLE, 1912. La morphologia della cromatina dal punto di vista fisico (*Arch. Zool.*, vol. VI).

DEMOOR, 1894. Contribution à l'étude de la physiologie de la cellule (*Arch. de Biol.*, t. XIII, p. 162, 244).

DRAGOIU et VLÈS, 1921. Sur la pression osmotique d'arrêt de la division cellulaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, p. 1127).

DRAGOIU et VLÈS, 1921. Les conséquences cytologiques de l'arrêt osmotique de la division cellulaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, p. 1210).

DRAGOIU, 1922. Influence de la pression osmotique sur la division cellulaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIV, p. 199).

DRAGOIU, VLÈS et ROSE, 1923. Recherches sur le pH d'arrêt de la division de l'œuf d'Oursin (*C. R. Ac, Sc.*, t. CLXXVI).

DRAGOIU, VLÈS et ROSE, 1923. Conséquences cytologiques de l'abaissement du pH extérieur sur l'évolution de l'œuf d'Oursin (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXVI).

DRAGOIU, VLÈS et ROSE, 1923. Sur la réversibilité des phénomènes d'arrêt par abaissement du pH dans l'évolution des œufs d'Oursin (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXVI).

DUESBERG (J.), 1924, Longueur du fuseau et cytodiérèse (*C. R., Soc. de Biologie*, t. XC, p. 627).

ENRIQUES, 1909. Wachstum und seine analytische Darstellung (*Biolog. Centralb.*, t. XXIX, p. 331, 352).

ENRIQUES, 1903. Sulla cosa della degenerazione senile dei Protozoi (*Monitore Zool. Ital.*, vol. XIV, p. 349).

ENRIQUES, 1907 et 1908. La forma come funzione della grandezza : ricerche sui gangli nervosi degli Invertebrati (*Arch. für Ent. Mech.*, t. XXV, p. 655).

ENRIQUES, 1911. *La teoria cellulare*, Bologna.

EPHRUSSI, 1923. Vitesse de segmentation des œufs d'Oursin (*C. R. Soc. biol.*, t. LXXXIX, p. 928).

EPHRUSSI, 1923. Action d'une température élevée sur la mitose de segmentation des œufs d'Oursins (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLXXVII, p. 1152).

ERDMANN, 1908. Kern und Plasmawachstum in ehren Beziehungen in einander (*Erg. der Anat. u. Ent. Gesch.*, t. XVIII).

ERDMANN, 1908. Experimentelle Untersuchungen die Massenverhältniss von Plasma, Kern, etc. (*Arch. f. Zellforsch*, Bd. II, p. 76).

ERDMANN, 1911. Quantitative Analyse der Zellbestandteile bei normalen, experimentelle veranderten und pathologischen Wachstum (*Erg. der Anat. u. Ent. Geschichte*, Bd. XXII, p. 471).

ERDMANN, 1913. Experimentelle Ergebnisse über die Beziehung zwischen Fortpflanzung und Befruchtung bei Protozoen besonders bei *Amoeba diploidea* (*Arch. f. Protistenk*, Bd. XXIX).

ERLANGER, 1897. Ueber die Morphologie der Zelle, und den Mecanismus der Zellteilung (*Zool. Centralb.*, Bd. IV, p. 657 et 809).

ERRERA, 1890. L'aimant agit-il sur le noyau en division? (*Bull. Soc. Roy. de Bot. de Belgique*, t. XXIX, p. 17, 24).

FAURÉ-FREMIET, 1913. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris magalocephala* (*Arch. Anat. micr.*, t. XV).

FAURÉ-FREMIET, 1913. Action des rayons ultra-violets sur la segmentation de l'œuf d'*Ascaris* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXII).

FAURÉ-FREMIET, 1921. La maturation et l'activation expérimentale de l'œuf chez les *Sabellaria* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 810).

FAURÉ-FREMIET, 1921. Variation périodique de la sensibilité de l'œuf de *Sabellaria alveolata L.* aux solvants des graisses (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 1051).

Fauré-Fremiet, 1922. Action de quelques chlorures sur l'hydratation de l'œuf de *Sabellaria* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 1075).

Fauré-Fremiet, 1923. Variation de l'alcalinité de l'œuf de *Sabellaria* pendant la maturation (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 863).

Fauré-Fremiet, 1923. Popriétés osmotiques de l'œuf de *Sabellaria alveolata* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 1028).

Fauré-Fremiet, 1924. L'œuf de *Sabellaria alveolata* (*Arch. d'Anat. micr.*, t. XX, p. 211).

Fischer, 1894. Zur Kritik der Fixierungsmethoden der Granula (*Anat. Anz.*, Bd. X).

Fischer, 1899. *Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas* (Iéna).

Fischer und Ostwald, 1905. Zur physikalisch chemischen. Theorie der Befruchtung (*Pflüger's Arch. f. die ges. Physiol*, Bd. CVI, p. 229).

Fissing, 1915. Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. LVI, p. 1).

Gallardo (Angelo), 1896. Essai d'interprétation des figures karyocinétiques (*An. del. Mus. Nat. de Buenos-Ayres*, t. V, p. 11, 22).

Gallardo (Angelo), 1909. La division de la cellule, phénomène bipolaire de caractère électro-colloïdal (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. XXVIII, p. 125, 156).

Gallardo (Angelo), 1912. Sur l'interprétation électro-colloïdale de la division kariokinétique (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXV).

Girard, 1909. Rôle de l'électrisation de contact dans la perméabilité des membranes aux électrolytes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXLVIII, p. 1047, 1058).

Girard et Mestrezat, 1922. Recherches expérimentales sur la perméabilité sélective des cellules vivantes aux ions. Remarque à propos de l'expérience de Donnan sur le rouge Congo (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 448).

Girard, Mestrezat et Morax, 1922. Recherches expérimentales sur la perméabilité cellulaire aux ions. La perméabilité de la cornée est une perméabilité ionique sélective (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 227).

Girard, Mestrezat et Morax, 1922. *Idem.* Perméabilité de la cornée de l'œil vivant (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 144).

Girard et Mestrezat, 1922, *Idem.* Schéma physico-chimique de la perméabilité sélective (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 355).

Girard, Mestrezat et Morax, 1922. Recherches expérimentales sur la perméabilité des tissus vivants aux ions (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 69).

Gray, 1913. The electrical conductivity of fertilized and infertilized eggs (*Journ. mar. Biol. Assoc.* N. S., vol. X, p. 50).

Gray, 1922. A critical study of the facts of artificial Fertilization and normal Fertilization (*Quart. Journ. of Micr. Science*, vol. LXVI).

Gray, 1922, Surface tension and cell-division. (*Quart. Journ. of microsc. Science*, vol. LXVI, p. 235.

Gaubert, 1908. Sur les édifices cristallins hélicoïdaux de la cholestérine (*Bull. Muséum Hist. Nat.*, Paris, p. 413, 416).

Gaubert, 1911. Sur les édifices hélicoïdaux (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLIII, p. 683, 685).

Hallez, 1885. *Recherches sur l'embryogénie et sur les conditions du développement de quelques Nématodes* (Paris, Doin éditeur).

Hamburger, 1890. Die isotonischen Koeffizienten und die roten Blutkorperchen (*Zeitschr. f. Physik. chem.*, Bd. VI, p. 319).

Hamburger, 1890. Die Permeabilität der toten Blutkörperchen im Zusammenhang mit den isotonischen Koeffizienten (*Zeitschr. f. Biol.*, Bd. XXVI, p. 414).

Hamburger, 1899. Ueber den Einfluss von Salzlösungen auf das Volum tierischer Zellen (*Arch. f. Physiol.*, p. 431).

Hamburger, 1909. Ueber den Durchtritt von Ca-Ionen durch die Blutkörperchen und dessen Bedingungen (*Zeitschr. f. Physical. Chemie*, Bd. LXIX, p. 663).

HAMBURGER et BUBANOVIC, 1910. La perméabilité physiologique des globules rouges, spécialement vis-à-vis des cathions (*Arch. int. de Physiol.*, t. X, p. 1).

HARVEY, 1911. Studies on the permeability of cells (*Journ. exp. Zool.*, vol, X, p. 507).

HARVEY, 1913. The permeability of living cells for alkalies (*Carnegie Inst.*, vol, X, p. 128).

HARVEY, 1914. The relation between the rate of penetration of marine tissus by alkali and the change in fonctionnal activity induced by alcali (*Carnegie Inst.*, nº 183, p. 131).

HARVEY, 1915. The permeability of cells for acids (*Carnegie Inst.*, nº 212, p. 143).

HAUSMANN, 1905. Ueber die Entgiftung der Saponins durch Cholesterin (*Hofm. Beitr.*, Bd. VI, p. 567).

HEILBRUNN, 1915. Studies in artificial parthenogenesis. Physical changes in the egg of *Arbacia* (*Biol. Bull.*, vol. XXIX, p. 146).

HEILBRUNN, 1917. An experimental study of cell-division (*Proc. Amer. Soc. Zool. Anat. Record*, vol. III, p. 487).

HEILBRUNN, 1920. The physical effect of anesthetics upon living protoplasm (*Biol. Bull.*, vol. XXXIX, p. 307, 315).

HEILBRUNN, 1920. An experimental study of cell-division. I. The physical conditions which determine the appearance of the spindle in the Urchin egg (*Journ. of exp. Zool.*, t. XXX, p. 211, 237).

HEILBRUNN, 1921. Protoplasmic viscosity changes during mitosis (*Journ. Exp. Zool.*, t. XXXIV, p. 447, 448).

HEILBRUNN, 1923. The colloïd. Chemistry of Protoplasma I et II. *Amer. Journ. of Physiol.*, vol LXIV, p. 481-510.

HENRI (V.), 1912. Coefficients thermiques comparés de processus physiques, chimiques, biochimiques et physiologiques (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 1084).

HERLANT, 1911. Recherches sur les œufs di et trispermiques de Grenouille (*Arch. de Biol.*, t. XXVI, p. 105).

HERLANT, 1913. Etude sur les bases cytologiques du mécanisme de la parthénogenèse expérimentale chez les Amphibiens (*Arch. Biol.*, t. XXVIII, p. 505).

HERLANT, 1914. Sur l'existence d'un rythme périodique dans le déterminisme des premiers phénomènes du développement parthénogénétique expérimental chez l'Oursin (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVIII, p. 1531).

HERLANT, 1917. Sur les variations de volume du noyau de l'œuf activé (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXIV, p. 412).

HERLANT, 1918. Sur quelques facteurs de la toxicité des solutions salines (*C. R. Soc. Biol.*).

HERLANT, 1918. Comment agit la solution hypertonique dans la parthénogenèse expérimentale. Méthode de LOEB. I. Origine et signification des asters accessoires (*Arch. Zool. Exp.*, t. LVII).

HERLANT, 1919. Variations cycliques de la cytolyse produite par la saponine chez l'œuf activé (*C. R. Soc. Biol.*, 22 février).

HERLANT, 1920. Le cycle de la vie cellulaire chez l'œuf activé (*Arch. de Biol.*, t. XXX).

HERTWIG (O. und R.), 1887. Ueber den Befruchtungs und Theilungsvorgang des thierischen Eies unter dem Einfluss äussere Agentien (*Jen. Zeitschr.* Bd XX p. 120, 241).

HERTWIG (O.), 1898. Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Entwicklung von *Rana fusca* und *Rana esculenta* (*Arch. f. mikrosk. Anat.*, Bd LI).

HERTWIG (O.), 1906. *Algemeine Biologie* (Jena).

HÖBER, 1906. *Physikalische Chemie der Zellen und der Gewebe* (Leipzig).

HÖBER und KIESOW, 1904. Weitere Mitteilungen über Ionenpermeabilitat bei Blutk¨rperchen (*Pflügers Arch. f. die ges. Physiol.*, Bd. CII, p. 196).

Höber und Gordon, Dora, 1908. Zur Kenntniss der Neutralsalzwirkung (*Hofmeisters Beitr.*, Bd. XI, p. 35).

Höber und Gordon, Dora, 1909. Physiologische Neutralsalzwirkungen (*Zeitschr. f. Physik. Chem.*, Bd. LXX, p. 135).

Höber und Gordon, Dora, 1910. Physicalisch-chemische Untersuchung von lebenden Zellen und Geweben (*Handbuch der biochem-Arbeitsmethod von E. Abderhalden*, Berlin, Wien, p. 538, 554).

Hofmeister, 1888. Zur Lehre von der Wirkung der Salze. Versuche über die Ausfallbarkeit von Eiweisskörpern durch Salze (*Arch. Exp. Path. u Pharm.*, Bd. XXIV, p. 247).

Hofmeister, 1890. Untersuchungen über den Quellungsvorgang (*Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, Bd. XXVII, p. 395, 413).

Hofmeister, 1901. Die chemische Organisation der Zelle (*Naturwissenschaftl. Rundschau.* Bd. XVI, p. 581, 600, 612).

Houssaye, 1898. Le rôle des phénomènes osmotiques dans la division cellulaire et les débuts de la mitose (*Anat. Anz.*, t. XIV, p. 305, 310).

Hovasse, 1923. Influence du froid sur les processus intimes de la mitose (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 191).

Jolly, 1904. Recherches expérimentales sur la division indirecte des globules rouges (*Arch. Anat. micr.*, t. VI, p. 455, 632).

Jolly, 1904. Influence de la température sur la durée des phases de la division indirecte. (*C. R. Acad. Sciences*, 1904).

Jörgensen, 1910. Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus* (Wahstumsperiode) (*Festschrift. R. Hertwig*).

Kite, 1913. Studies on the physical properties of protoplasm (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXXII).

Koehler, 1904. Mikrophotographische Untersuchungen mit ultra-violette Licht (*Zeitschr. f. wiss. mikr. u. mikr. Technik.*, Bd. XXI, p. 129 et 273).

Konopacki, 1911. Ueber den Einfluss hypertonischer Lösungen auf befruchteten Echinideneier (*Arch. f. Zellforch.* Bd. VII).

Konopacki, 1918. Untersuchungen über die Einwirkung verdünnten Seewassers auf verschiedens Entwicklungsstadien der Echinodemeiern (*Strongylocenrotus lividus*) (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XLIV, p. 337).

Kostanecki, 1904. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich tentwicklenden Eiern von *Mactra* (*Arch. f. mikr. Anat.*, t. LXIV).

Labbé (A.), 1898. *La cytologie expérimentale* (Paris, Carré et C. Naud).

Lecomte du Noüy, 1923. Les phénomènes de tension superficielle en biologie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 1076).

Lepeschkin, 1911. Ueber die Wirkung anesthesierenden Stoffe auf die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran (*Ber. deutsch. Bot. Ges.*, Bd. XXIX, p. 349).

Liesegang, 1912. Protoplasmastrukturen und deren Dynamik (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XXXIV, p. 452).

Lillie (S. R.), 1903. On the differences in the direction of the electrical convection of certain free cells and nuclei (*Amer. Journ. of Physiol.*, t. VIII, p. 273, 283).

Lillie (S. R.), 1903. Fusion of blastomeres and nuclear division without cell division in solutions of non electrolytes (*Biol. Bull.*, vol. IV, n° 4).

Lillie (S. R.), 1905. On the conditions determining the disposition of the chromatic filaments and chromosomes in mitosis (*Biol. Bull.*, vol. VIII).

Lillie (S. R.), 1905. The physiology of the cell-division. I. Experiments on the conditions determining the distribution of chromatic matter in mitosis (*Amer. Journ. of Phys.*, vol. XV).

Lillie (S. R.), 1909. The significance of changes in the permeability of the plasma membrane of the living cell in the processus of stimulation an contraction (*Proc. of Soc. Exp. Biol. et Med.*, t. VI, p. 57).

LILLIE (S. R.), 1909. The general biological significance of changes in the permeability of the surface layer or plasma membrane of living cells (*Biol. Bull.*, t. XVII, nº 3).

LILLIE (S. R.), 1910. The physiology of cell-division. II. The action of isotonic solutions of neutral salts on unfertilized eggs of *Asterias* and *Arbacia* (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXVI).

LILLIE (S. R.), 1912. Antagonism between salts and anaesthetics. I. On the condition sof the antistimulating action of anaesthetics with observations on their protective or antitoxic action (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXIX, p. 372).

LILLIE (S. R.), 1912. II. Decrease by anaesthetics in the rate of toxic action of pure isotonic salt solution on unfertilized Starfish and Seaurchin eggs (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXX, p. 1).

LILLIE (S. R.), 1913. Antagonism, etc., Further observations showing parallel decrease in the stimulating, permeability encreasing and toxic actions of salt solutions in the presence of anaesthetics (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXXI, p. 255).

LILLIE (S. R.), 1914. The action of various anaesthetics in suppressing cell division in Sea-Urchin eggs (*Journ. Biol. Chem.*, vol. XVII, p. 121).

LILLIE (S. R.), 1914. Antagonism. IV. Inactivation in salt solutions and hypertonic seawater by anaesthetics (*Journ. exp. Zool.*, vol. XVI, p. 121).

LILLIE (S. R.), 1916. Increase of permeability to water following normal and arti. ficial activation in Seaurchin egg (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XL, p. 249).

LILLIE (S. R.), 1916. The physiology of cell-division. VI. Rhythmical changes in the resistance of the dividing Seaurchin egg to hypotonic seawater and their physiological significance (*Journ. exp. Zool.*, vol. XXI, p. 369).

LOEB (J.), 1895. Ueber die Physiologische Wirkung des Sauerstoffmangels (*Arch. f. die ges. Phys.*, Bd. LXII, p. 265).

LOEB (J.), 1898. Ueber den Einfluss von Alkalien und Sauren auf die embryonale Entwicklung das Wachstum (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. VII, p. 631).

LOEB (J.), 1908. *Ueber den chemischen Charakter der Befruchstungsvorgangs und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen* (Leipzig).

LOEB (J.), 1909. *Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies* (Berlin).

LOEB (J.), 1911. *La fécondation chimique (parthénogenésie artificielle)* traduit par A. DRZEWINA (Paris, *Mercure de France*).

LOEB (L.) und FLEISHER, 1911. Ueber die Bedeutung das Sauerstoffs für das Wachstum der genebe von Saügetière. *Biochem. Zeitsch.*, Bd. XXXVI, p. 98-113.

LOEB (L.), 1921. Studies on cell granula and amoeboid movements of the blood cells of *Limulus* (*Univ. Pensylvania Med. Bull.*, avril-mai, p. 34).

LOEB (L.), 1921. Amoeboid movements, tissue formation and consistence of protoplasm (*Amer. Journ. Phys.*, t. LVI, p. 140, 165).

LOTZ et FRAZER, 1921. Les pressions osmotiques des solutions concentrées de sucre (*Am. Chem. Soc.*, t. XLIII, p. 2501, 2507, 12).

LOYEZ (MARIE), 1905. Recherches sur le développement ovarien des œufs méroblastiques à vitellus nutritif abondant (*Arch. Anat. micr.*, t. VIII, p. 239).

LYON, 1902. Effects of potassium cyanide and of lack of Oxygen upon the fertilized eggs and the embryos of the Sea-Urchin (*Arbacia punctulata*) (*Amer. Journ. Phys.*, vol. VII, p. 56).

LYON, 1904. Rhythms of susceptibility and of carbon dioxyde production in cleavage (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XI).

LYON und SCHACKELL, 1910. On the increased permeability of Sea-Urchin eggs following fertilization (*Science*, vol. XXXII, p. 249).

MACALUM, 1911. Oberflächenspannung und Lebenserscheinungen (*Erg. der Phys.* II, *Jahrg.*).

MAC CLENDON, 1902. Karyokinesis and cytokinesis in the maturation, fertilization, and cleavage of *Crepidula* and other *Gasteropoda* (*Journ. Ac. of Nat. Sc. of Philadelfia*, II Ser., vol. XII, p. 1).

Mac Clendon, 1908. The segmentation of eggs of *Asterias Forbesii* deprived of Chromatin (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXVI, p. 662, 668, 4 fig.).

Mac Clendon, 1910. On the dynamics of cell-division (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXI, p. 80, 90).

Mac Clendon, 1910. Electrolytic experiment showing increase of permeability of the egg to ions at the beginning of development (*Science*, vol. XXXII, p. 1220).

Mac Clendon, 1910. Further proofs of the increase impermeability of the Sea Urchin's egg to electrolytes at the beginning of development (*Science*, vol. XXXIII, p. 317).

Mac Clendon, 1911. On the dynamics of the cell-division. I. The electric charge on colloids in living cells in the Root tips of plants (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXII, p. 31).

Mac Clendon, 1911. II. Changes in the permeability of developing eggs to electrolytes (*Amer. Journ. of Phys.*, vol. XXVII).

Mac Clendon, 1912. A note on the dynamics of cell-division. A reply to Robertson (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XXXIV, p. 263).

Mac Clendon, 1912. An osmotic and Surface tension phenomena in living element (*Biol. Bull.*, p. 113).

Mac Clendon, 1913. The laws of surface tension, and their applicability to living cells and cell-division (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXVII, p. 233).

Mac Clendon, 1915. The action of anaesthetics in preventing increase of cell-permeability (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XXXVIII, p. 173).

Mac Clendon, 1916. On the hydrogen ion concentration of seawater and the physiological effects of the ions of seawater (*Proc. Nat. Ac. Sc.*, vol. II, p. 689).

Maltaux et Massart, 1906. Sur les excitants de la division cellulaire (*Recueil Ints. Bot. Leo Errera*, t. VI, et *Ann. de la Roy. Soc. des Sc. méd. et Nat., de Bruxelles*, t. XV, p. 1).

Mathews, 1906. A note on the susceptibility of segmenting *Arbacia* and *Asterias* eggs to cyanides (*Biol. Bull.*, vol. XI, p. 137).

Mathews, 1907. A contribution to the chemistry of cell-division, maturation and fertilization (*Amer. Journ. of Phys.*, t. XVIII, p. 89, 111).

Mathews, 1913. On important chemical difference between the eggs of the Sea-urchin and those of the Starfish (*Journ. Biol. Chem.*, vol. XIV, p. 465).

Matisse, 1921. La loi d'Arrhénius contre la règle du coefficient de température (*Arch. Int. de Phys.*, vol. XVI, p. 461).

Mauguin, 1910. Liquides biréfringents à structure colloïdale (hélicoïdale) (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLI, p. 1141).

Mayer (A.), 1902. Coefficients de viscosité du sérum et du plasma sanguins normaux (*C. R. Soc. Biol.*, p. 365).

Mayer (A.), 1902. Etudes viscosimétriques sur la coagulation des albuminoïdes du plasma sanguin par la chaleur (*C. R. Soc. Biol.*, p. 367).

Mayer (A.), 1902. Variations de viscosité et variations de quantité des substances albuminoïdes du plasma sanguin (*C. R. Soc. Biol.*, p. 767).

Mayer, Henri, Lalou et Stodel, 1903. Etude générale des propriétés des solutions colloïdales (introduction) (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1613).

Mayer, Henri, Lalou et Stodel, 1903. Sur la précipitation des colloïdes simples par les électrolytes (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1666).

Mayer, Henri, Lalou et Stodel, 1903. Sur les phénomènes qui précèdent la précipitation des colloïdes par les électrolytes et sur les moyens de les mettre en évidence (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1668).

Mayer, Henri, Lalou et Stodel, 1903. Etude des complexes de deux colloïdes. I. Etude des complexes de deux colloïdes de même signe électrique (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1669).

Mayer, Henri, Lalou et Stodel, 1903. II. Etude des complexes de deux colloïdes de signes électriques opposés (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1671).

MAYER (A.), 1907. Etudes ultra-microscopiques sur quelques colloïdes organiques. Deux états optiques des colloïdes organiques (*C. R. Soc. Biol.*, p. 42).

MAYER (A.), 1907. II. Précipitation par les électrolytes. Coagulation par la chaleur (*C. R. Soc. Biol.*, p. 184).

MAYER (A.), 1907. Etudes ultra-microscopiques sur le plasma sanguin (*C. R. Soc. Biol.*, p. 553).

MAYER (A.), 1907. La coagulation du plasma sanguin. Etude ultra-microscopique (*C. R. Soc. Biol.*, p. 658).

MEIER, 1921. Effect of direct current on cells of root tip of Canada field pea (*Bot. Gaz.*, vol. LXXII, p. 113, 138).

MOORE, 1915. On the rhythmical susceptibility of developing Sea-urchin egg hypotonic seawater (*Biol. Bull.*, vol. XXVIII, p. 253).

MOORE and ROAF, 1915. On certain physical and chemical properties of solutions of chloroform and other anaesthetics. A contribution to the chemistry of anaesthetics. (*Proc. of Roy. Soc.*, vol. LXXVII, p. 86).

MOORE and ROAF, 1907. On the equilibrium between the cell and its environment in regard to soluble constituents, with special reference to the osmotic equilibrium of the red blood corpuscle (*Biochem. Journ.*, vol. V, p. 55).

MOORE and ROAF, 1909. *The equilibrium of colloid and cristalloid in living cells. Further advances in Physiol.* (edit. by I. Hill. London).

MORGAN, 1895. Studies of the Partial Larvae of *Sphœrechinus* (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XI).

MORGAN, 1895. On the production of artificial archoplasmic centers (*Am. Morph. Soc. Sc.*, N. S. 3, nº 54).

MORGAN, 1896. The production of artificial astrospheres (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. III, p. 339).

MORGAN, 1898. The effect of salt-solutions on the unfertilized eggs of *Arbacia* (*Science*, N. S. 7, nº 164).

MORGAN, 1899. The action of salt-solutions on the unfertilized and fertilized eggs of *Arbacia*, and of other animals (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. VIII, p. 448).

MORGAN, 1899. The development of the Frog's egg (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. VIII, p. 542).

MORGAN, 1900. Further studies on the action of salts-solutions and of other agents on the eggs of *Arbacia* (*Arch. Ent. Mech.*, t. IX, p. 489).

ODQUIST, 1922, Viskositätsveränderungen des Zellplamas während des ersten Entwicklungsstufen des Froschaies. (*Arch. f. Ent. Mech.*). Bd. LI, p. 610.

OES (1908). Ueber die autolyse der Mitosen (*Bot. Zeitschr.*, t. LXVI, p. 89, 120, 2 pl.).

OSTERHOUT, 1906. Extreme toxicity of NaCl and its prevention by other salts (*Journ. Biol. chem.*, vol. I, p. 363, *Science*, vol. XXXIV).

OSTERHOUT, 1912. The permeability of protoplasm to ions and the theorie of antagonism (*Science*, nº 5, 35, p. 112, 115).

OSTERHOUT, 1916. The decrease of permeability produced by anaesthetics (*Bot. Gaz.*, vol. LXI, p. 148).

OSTERHOUT, 1916. The penetration of balanced solutions and the theory of antagonism (*Science*, vol. XLIV, p. 395).

PANTIN, 1923. On the Physiology of Amoeboid movement. I. (*Journ. Marine Biol. Assoc.*, vol XIII, p. 24).

PANTIN, 1924. Temperature and the Viscosity of Protoplasma. (*Journ. Marine Biol. Assoc.*, vol. XIII).

PANTIN, 1924. On the Physiology of Amoeboid movement. II. (*The British Journal of exp. Biology.*, vol I., p. 519-538).

Pentimali, 1909. Influenza della corrente elettrica sulla dinamica del processo cariocinetico (*Arch. Ent. Mech.*, t. XXVIII, p. 260, 276, pl. 20).

Prenant, 1910. Théories et interprétations physiques de la mitose (*Journ. Anat. et Phys.*, t. XLVI).

Rhumbler, 1898. Die Mechanik der Zelldurschnürung nach Meves und nach meiner Auffassung (*Arch. Ent. Mech.*, t. VII, p. 535, 556).

Rhumbler, 1899. Allgemeine Zellmechanik (*Ergeb. der Anat. u Ent. Merkel u. Bonnet.*, t. VIII, p. 545, 625).

Rhumbler, 1903. Mechanischer Erclärung der Aehnlichkeit zwischen magnetischen Kraftliniensystemen und Zellteilungsfiguren (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. XVI, p. 476, 535).

Rhumbler, 1905. Zur Theorie der oberflachen Kräfte der Amöben (*Zeit. wiss. Zool.*, t. LXXXIII, p. 1, 52, 23 fig.).

Rhumbler, 1905. Die anamogene Oberfläschenspannung des lebenden Zelleibes. Zur Erwirderung an M. Heidenhain (*Anat. Hefte*, t. XXVII, p. 859, 883, 3 fig.).

Robertson, 1909. Note on the chemical mechanics of cell-division (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXVII, p. 29).

Robertson, 1911. Further remarks on the chemical mechanics of cell-division (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XXXII, p. 308).

Robertson, 1913. Further explanatory remarks concerning the chemical mechanics of cell-division (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXV, p. 692).

Romker, 1908. Die Permeabilität der Leberzellen für Zucker (*Bioch. Zeit.*, Bd. XIV, p. 254, 274).

Rossi, 1896. Sull' azione dell' elettricita nello sviluppo delle uove degli Anfibi (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. IV).

Ruhland, 1908. Beiträge zur Kenntniss der Permeabilität der Plasmahaut (*Jahr. f. wiss. Bot.*, t. XLVI, p. 1).

Samassa, 1898. Ueber die Einwirkung von Gasen auf die Protoplasmaströmmung und Zellteilung von *Tradescantia* sowie auf die Embryonalentwicklung von *Rana* und *Ascaris* (*Verl. Mitt. Verh. Natur. Med. Verein. Heidelberg.*, Bd. VI).

Seifriz, 1920. Viscosity values of protoplasm as determined by microdissection (*Bot. Gazet.*, vol. LXX, p. 360, 385).

Seifriz, 1921. Observations on some physical properties of protoplasma by aid of microdissection (*Am. Journ. of Bot.*, vol. XXXV, p. 268, 296).

Spaulding, 1904, The rhythm of immunity and susceptibility of fertilized Sea-urchin eggs to ether, to HCl and to some salts (*Biol. Bull.*, vol. VI, p. 224).

Spaulding, 1907. The energy of segmentation (*Journ. Exp. Zool.*, p. 283).

Speck, 1918. Die amöboiden Bewegungen und Stromungen in den Eizellen einiger Nematoden während der Vereinigung der Vorkerne (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XLIV, p. 217).

Speck, 1918. Oberflächenspannungsdifferenzen als eine Ursache der Zellteilung (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XLIV, p. 5, 114).

Speck, 1920. Essay ueber physikalische chemische Erklarungen der Veranderungen der Kernsubstanz (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XLVI).

Stiles, 1921. La pénétration des électrolytes dans les gels. La diffusion des sulfates dans les gels (*Bioch. Journ.*, t. XV, p. 629, 635). (*Bull. Soc. Chim.*, t. XXXII, p. 763).

Stiles et Adair, 1921. La pénétration des électrolytes dans les gels. Influence de la concentration du gel sur le coefficient de diffusion du chlorure de sodium (*Bioch. Journ.*, t. XV, p. 620, 628. *Bull, Soc. Chim.*, t. XXXII, p. 762).

Strangeways, 1921. Observations on the changes in living cell during growth and division (*Proc. Roy. Soc.*, Bd. DCLVIII, p. 137).

Tchahotine, 1921. Les changements de la perméabilité de l'œuf d'Oursin localisés expérimentalement (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 466).

Teichmann, 1903. Ueber die Beziehung zwischen Astrosphären und Furchen (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XVI, p. 243).

Trondle, 1920. Nouvelles recherches sur la résorption de substances par la cellule (*Biochem. Zeitschr.*, t. CXII, p. 259).

Van Rijsselberghe, 1901. Influence de la température sur la perméabilité du protoplasma vivant pour l'eau et les substances dissoutes (*Rec. Inst. Bot. de Bruxelles*, t. V, p. 209).

Vlès, 1921. Sur les variations de l'indice de réfraction de l'œuf d'Oursin pendant la division (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 494).

Vlès, 1921. Technique pour mesurer l'indice de réfraction d'un œuf d'Oursin en évolution (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 492).

Vlès, 1922. Sur les variations des ions H au voisinage des œufs en division (*C. R. Soc. Biol.*, Séance du 9 octobre 1922).

Vlès et Nouel, 1922. Note sur quelques propriétés physico-chimiques des produits sexuels de l'Oursin. (*Arch. de Phys. biol.*, t. I, p. 301).

Vlès et Dragoiu, 1921. Etudes sur la pression osmotique d'arrêt de la division cellulaire (*Arch. Biol.*, t. XXXI, p. 453).

Waterman et Dirken, 1921. Etudes physiologiques sur le cancer. II. La consommation d'oxygène dans quelques tumeurs (*Arch. Néerland. de Phys. de l'Homme et des Animaux.*, t. V, p. 328).

Weber (F.), 1917. Die Temperaturabhandigkeit der Plasmaviskosität (*Ber. Deut. Bot. Ges.*, Bd. XXXIV, p. 836, 846).

Weber (F.), 1918. Die Plasmaviskosität pflanzlicher Zellen. (*Zeitschr. f. Allg. Phys.*, Bd. XVIII, p. 1, 20).

Wildeman (de), 1891. Premières recherches au sujet de l'influence de la température sur la marche, la durée et la fréquence de la caryocinèse dans le règen végétal (*Soc. des Sc. Med. et Nat. de Bruxelles*, t. XCII, p. 33, 65).

Wilson, 1896. Archoplasm centrosomes and chromatin in the Sea-Urchin egg (*Journ. Morph.*, vol. XI, n° 2).

Wilson, 1896. *The cell in development and inheritance* (New-York).

Wilson, 1899. On the protoplasmic structure in the Eggs of Echinoderms and some other animals (*Journ. Morph.*, vol. XV, Suppl., p. 1, 28).

Wilson, 1901. Experimental studies in Cytology. I. A cytological study of artificial Parthenogenesis in Sea-Urchin Eggs (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XII, p. 559, 596).

Yatsu, 1094. Experiments on the development of egg fragments of *Cerebratulus* (*Biol. Bull.*, vol. VI, p. 123, 136, 5 fig.).

Yatsu, 1905. The formation of centrosomes in enucleated egg fragments (*Journ Exp. Zool.* vol. II, p. 287).

Ziegler, 1898. Experimentelle Studien uber die Zellteilung. I. Die Zerschnurung der Seeigsleier. II. Furchung ohne Chromosomen (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. VI).

CHAPITRE IV

Les transformations d'énergie au cours du développement embryonnaire

1. **Introduction.** — En abordant l'étude de la croissance d'un organisme, ou même plus simplement d'un tissu, on doit considérer d'une part l'*accroissement* de la masse totale des substances organisées, c'est-à-dire l'ensemble des transformations chimiques qui en réalisent la synthèse, et d'autre part l'*organisation* de la masse totale croissante, c'est-à-dire l'ensemble des processus de division cellulaire, et des changements d'état physico-chimiques concomitants.

Nous savons que ces transformations chimiques comme ces changements d'état représentent un certain travail, et par conséquent une transformation d'énergie. Nous pouvons donc tenter d'exprimer l'ensemble de ces phénomènes d'une manière générale, par leur aspect thermodynamique.

Nous considérerons d'abord, comme un cas relativement simple, le développement de l'*Aspergillus niger (Sterigmatocystis nigra)* dont l'étude a été reprise en 1922 par Terroine et Wurmser et par Molliard.

Terroine et Wurmser emploient comme milieu de culture le liquide de Czapek :

Phosphate monopotassique	1
KCl	0,5
$MgCl^2$	0,5
Sulfate ferreux	0,01
Sulfate de zinc	0,01
Eau	0,01

auquel ils ajoutent assez d'acide sulfurique pour que pH=5.

L'*Aspergillus* peut *vivre* dans ce milieu ; mais pour qu'il se *développe* il lui faut des aliments ; deux substances sont ajoutées au milieu de culture : un aliment hydrocarboné, glucose ; un aliment azoté, sulfate d'ammoniaque.

Le schéma général du phénomène de développement est évidemment conforme à ce que Le Dantec appelait l'équation de la vie

manifestée : protoplasma + aliments = *n* protoplasma + résidus, ou P+Q=*n*P+R ; mais nous devons considérer les choses de plus près, car les aliments *consommés* pendant la croissance se répartissent en trois catégories :

1° Aliments transformés en substance organisée (mycélium) ;

2° Résidus ;

3° Aliments dégradés fournissant l'énergie transformée : *a*) en travail contre l'extérieur ; *b*) en élévation du potentiel chimique des substances formées.

Comme le milieu de culture, les aliments et le mycélium sont contenus en quantités connues dans un vase, et cet ensemble constitue un système dont il sera toujours possible de suivre les transformations : 1° en dosant le glucose et l'azote restant dans le milieu liquide ; 2° en isolant le mycélium, et en dosant son azote ou bien en mesurant sa chaleur de combustion ; 3° en étudiant les échanges gazeux du système, etc.

Deux problèmes se posent maintenant ; l'un d'eux est chimique, c'est celui de l'utilisation des aliments dans ses rapports avec la nature ou la constitution de ceux-ci ; nous savons par exemple d'après les recherches de Osborne et Mendel qu'un organisme animal ne peut s'accroître si ses aliments azotés ne renferment pas certains acides aminés et nous savons encore quelle est l'importance actuelle du problème des vitamines ; mais nous n'insisterons pas ici sur ces questions qui nous entraîneraient trop loin.

L'autre problème est énergétique : c'est celui de l'utilisation de l'énergie transformée pendant la croissance. Il faut donc savoir à quoi correspond l'énergie de croissance proprement dite ; celle-ci est-elle seulement la somme des énergies correspondant : 1° à l'augmentation du potentiel chimique et 2° au travail effectué à l'extérieur pendant la croissance et les divisions cellulaires ? S'il n'en est pas ainsi, c'est qu'une partie de l'énergie totale s'est perdue sous forme de chaleur, et cette perte peut être mesurée. On doit donc pouvoir calculer le rendement énergétique de la croissance, et tenter de discriminer la part de l'énergie de croissance qui revient aux synthèses chimiques et celle qui correspond au travail d'organisation morphologique.

Pour Terroine et Wurmser, le rendement énergétique brut est le rapport de la quantité d'énergie fixée, sous forme de tissus et de réserves, à la quantité totale d'énergie métabolisée.

Pour le déterminer on doit connaître :

a) l'énergie totale emmagasinée dans l'organisme formé (état final) ;

b) l'énergie totale représentée par les aliments à l'état initial ;

c) l'énergie représentée par les aliments non consommés et par les résidus à l'état final.

La différence *b*—*c* donne la quantité d'énergie transformée. Le rendement brut est $\frac{a}{b-c}$.

Les trois valeurs de *a*, *b*, *c*, peuvent être déterminées à la bombe calorimétrique sous la forme de chaleurs de combustion.

Terroine et Wurmser remarquent que les phénomènes de croissance résultent d'un ensemble de « réactions liées » au sens d'Ostwald ou représentent des « systèmes de transformations couplées » selon l'expression de Job. C'est ainsi que les sucres s'oxydent avec diminution de l'énergie utilisable, tandis que les synthèses qui s'effectuent augmentent l'énergie utilisable de la masse organisée. Soit A la diminution, et A′ l'augmentation de cette énergie.

Le principe de Carnot montre qu'une transformation réelle ne peut se produire dans un système qu'avec perte d'énergie utilisable. On aura donc toujours $A' < A$ puisque l'entropie du système augmente, et le rendement énergétique sera inférieur à l'unité : $\frac{A'}{A} < 1$.

Supposons maintenant que les aliments soient brûlés dans la bombe calorimétrique suivant le schéma : aliments $+ 0^2 \rightarrow CO^2 + H^2O$.

Soit $U_1 - U_2$ la diminution correspondante de l'énergie interne ; on a $U_1 - U_2 = Q$, Q étant la chaleur cédée au calorimètre et mesurée.

Lorsque le système *Aspergillus* + milieu a évolué physiologiquement, si l'on détermine à la bombe sous forme de chaleur de combustion la valeur de *a*, *b* et *c*, soit $a = U'$, $b = U_1 - U_2$, $c = U_R$, on a $U_1 - U_2 = U' + U_R$ + chaleur dégagée pendant la croissance + travail contre l'extérieur + travail d'organisation, mais on ne peut qu'établir le rapport $\frac{U'}{(U_1 - U_2) - U_R}$ ou rendement brut, ou variation globale de l'énergie interne sans rapport nécessaire avec la variation d'énergie utilisable.

Nous aurons d'ailleurs à examiner, au point de vue du développement embryonnaire, l'usage que Rubner, Tangl, Farkas, Glaser Fauré-Fremiet, etc., ont pu tirer de ce rendement brut.

Dans deux expériences de Terroine et Wurmser les valeurs trouvées sont les suivantes :

Energie totale...	$U_1 - U_2$	= 6,46 et	6,0 Calories
Mycélium formé.	U'	= 3,55 —	3,48 —
Résidus	U_R	= 0,510 —	0,125 —

d'où $\frac{U'}{(U_1 - U_2) - U_R} = 0{,}58$ ou valeur du rendement brut.

Ce qui revient à dire, par exemple, que pour former 0,740 gramme de mycélium, renfermant 3,55 Cal., il a été dépensé 5,95 Cal.

Mais 1 gramme de mycélium renferme 4,8 Cal., tandis que 1 gramme de glucose ne contient que 3,76 Cal. ; *le potentiel chimique a donc bien été augmenté.*

Une étude plus approfondie demande que l'on détermine d'autre part :

1° l'énergie correspondant à CO^2 dégagé pendant le développement, soit U'' ;

2° l'énergie correspondant à l'entretien des substances formées, soit U_E.

On pourrait alors établir un *bilan* :

$$(U_1 - U_2) = U' + U_R + U'' + \text{travail},$$

et le rendement *réel* serait égal à

$$\frac{U'}{(U_1 - U_2) - (U_R + U_E)}$$

Ayant déterminé la quantité de CO^2 formé à partir de la combustion du sucre, et sachant que dans ce cas la chaleur de formation est de 0,005 Cal. par cm^3, on peut, d'après l'équation du bilan, calculer le travail ; on trouve :

$$6,46 - (3,55 + 0,51 + 2,02) = -8,38$$

soit une perte d'environ 6 % *et qui peut représenter* du travail fourni à l'extérieur. Mais cette faible quantité d'énergie est bien voisine des erreurs d'expériences.

Molliard (1922) arrive au même résultat et conclut que l'énergie transformée par la respiration, se trouvant tout entière sous la forme CO^2 + chaleur, ne peut servir à l'augmentation du potentiel chimique du mycélium, c'est-à-dire à la croissance proprement dite (1).

Terroine et Wurmser calculent à partir d'une de leurs expériences, que le gaz carbonique dégagé correspond à 0,48 gramme de glucose consommé ; le mycélium, d'après sa teneur en carbone, correspond de même à 0,72 gramme de glucose. Le résidu devrait donc contenir :

$$1,5 - (8,72 + 0,48) = 0,3 \text{ de glucose, ou } 1,128 \text{ calories.}$$

Mais la combustion du résidu a donné seulement 0,125 Cal. *Il y a donc eu des combustions incomplètes du glucose,* et il n'est pas impossible que des réactions endothermiques de synthèse se soient effec-

(1) Voir page 201 les résultats obtenus par Bohr et Hasselbach sur l'embryon de Poulet.

tuées à leurs dépens. Ce fait mérite d'être retenu. Ultérieurement Wurmser (1924) a montré que les synthèses consistent toujours en des oxydations-réductions. Dans un travail tout récent, Aubel et Wurmser établissent comme une conséquence de ce fait que l'énergie nécessaire aux synthèses ne provient pas d'oxydations aux dépens de l'oxygène libre, c'est-à-dire des combustions respiratoires. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse de Molliard.

Au point de vue de la notion d'énergie de croissance, le calcul de ce rendement est évidemment incomplet, car tout organisme qui s'accroît doit subvenir à deux sources de dépenses : celles correspondant au travail chimique et physique d'accroissement, et aussi celles correspondant à l'*entretien* des parties déjà formées. Le calcul de l'énergie d'entretien U_E est plus délicat. Un mycélium dans un milieu *impropre à la croissance* continue à respirer ; mais il est très difficile de calculer U_E d'après ces échanges respiratoires minimum, et Terroine et Wurmser ont cherché une autre méthode.

Le coefficient d'utilisation d'un aliment peut être considéré comme constant à diverses températures, entre 22° et 36° par exemple. Il n'en est pas ainsi pour la vitesse de croissance qui varie du simple au double dans cet intervalle de température.

Par contre, le coefficient d'utilisation d'un même aliment varie brusquement de 0,40 à 0,29 lorsque la réaction du milieu passe de pH 1,7 à pH 1,2. En même temps, la vitesse de développement tend vers zéro.

A partir de ce fait, on peut calculer la valeur d'un coefficient trophique (ou de croissance) a et celle d'un coefficient d'entretien b.

La croissance du mycélium, au début, est sensiblement linéaire et proportionnelle à l'âge de la culture, c'est-à-dire au temps ; en première approximation tout au moins, on peut écrire : $p = Kt$; p étant le poids de mycélium.

On peut admettre d'autre part que, à tout moment du développement, le poids du glucose consommé est la somme de deux termes :

le terme a proportionnel à la vitesse K du développement, et représentant la consommation utilisée pour la croissance ; le terme b proportionnel au poids du mycélium déjà formé à ce moment et représentant la consommation d'entretien.

La consommation du glucose à l'instant K sera donc :

$$\frac{dc}{dt} = K(a + bt).$$

Cette concentration est nulle pour $t = 0$. En intégrant, la quantité

totale du glucose consommé au temps t depuis le début du développement devient :

$$C = p\left(a + \frac{1}{2}bt\right).$$

En faisant varier largement les vitesses de croissance, entre pH 1,7, et 1,2 par exemple, on peut déterminer :

1° la consommation C_1 nécessaire pour obtenir un poids p en un temps t_1 ;

2° la consommation C_2 nécessaire pour obtenir le même poids p en un temps t_2.

On obtient :

$$b = 2\,\frac{C_2 - C_1}{p\,(t_2 - t_1)}$$

et par substitution on détermine la valeur de a.

Les résultats de ce calcul donnent :

a = 2,2 grammes de glucose pour 1 gramme de mycélium ;

b = 0,011 gramme de glucose pour 1 gramme de mycélium.

Si la différence des vitesses de développement est trop faible, dans le cas des variations de température par exemple, la différence diminue et devient de l'ordre de grandeur des erreurs d'expériences.

Le calcul de U_E s'effectue à partir de la consommation d'entretien en glucose : $C = \frac{1}{2}bpt$,

où t est exprimé en heures et p en grammes.

b = 0,011 gramme de glucose par gramme-heure, soit 0,041 Cal. En introduisant cette valeur dans le calcul du *rendement réel*, on obtient :

$$\frac{U'}{(U_1 - U_2) - U_R + U_E} = 0{,}72 \text{ à } 0{,}73$$

Il existe donc un déchet énergétique voisin de 30 % ; la question demeure de savoir si ce déchet correspond à de la chaleur rayonnée ou à du travail.

Certains échanges entraînent un travail ; par exemple du travail osmotique, car celui-ci peut se représenter en définitive par des chocs de molécules. Si le développement s'effectuait librement dans un calorimètre, ce travail se retrouverait en chaleur. Par contre le travail d'organisation, représenté par exemple par l'augmentation du potentiel de surface résultant de la multiplication cellullaire, est détruit quand on dessèche le mycélium pour le brûler, et ne peut se retrouver dans les déterminations de chaleurs de combustion.

L'exactitude, à —6 % près du bilan total, semble prouver que ce travail doit être faible.

Une importante conclusion du mémoire de TERROINE et WURMSER est relative à la valeur élevée du rendement énergétique réel dans les processus de croissance, puisque celui-ci dépasse 70 % ; il est de même ordre que celui trouvé par FINGERLING, KOEHLER et REINHARDT chez le Porc en estimant, d'une manière très approximative, l'énergie d'entretien d'après la loi de surfaces.

2. **Développement embryonnaire dans l'intérieur de l'œuf.** — Dans tous les cas où le développement embryonnaire s'effectue jusqu'à un stade plus ou moins avancé dans l'intérieur de l'œuf, et sans rapport avec l'organisme maternel, cet œuf peut être considéré comme un système chimique fermé à tout apport d'aliment ; mais ce n'est pas un système isolé ; il reste perméable aux gaz comme à l'eau et laisse diffuser la chaleur.

L'œuf absorbe de l'oxygène et oxyde ses réserves énergétiques, les phénomènes respiratoires s'exprimant ainsi :

$$\text{Réserves} + 0^2 \rightarrow CO^2 + H^2O + \text{chaleur.}$$

L'acide carbonique diffuse en général dans l'atmosphère ou dans le milieu extérieur, et l'eau est éliminée quand on détermine le poids sec de l'œuf. Il est donc évident que ce poids sec *diminue* progressivement au cours des échanges respiratoires par la perte non compensée de carbone et d'eau. A cette perte correspond une diminution de l'énergie interne.

L'œuf est donc un système dont les transformations s'effectuent de manière isotherme (puisque la chaleur diffuse dans un milieu pratiquement illimité) et dont on peut mesurer la perte d'énergie interne au cours du développement. En ce qui regarde l'utilisation de l'énergie transformée, deux cas doivent être distingués.

Dans le cas de l'œuf de Poule, par exemple, il existe une masse vitelline abondante, aux dépens de laquelle l'embryon se développe, exactement comme le mycélium de l'*Aspergillus* se développe aux dépens de son milieu nutritif ; nous retrouvons les mêmes formes d'énergie : U', $(U_1 - U_2)$ et U_R qui permettent d'établir un rendement brut.

Dans le cas de l'œuf d'*Ascaris*, pour choisir un autre exemple typique, le vitellus est peu développé et la segmentation totale ; la diminution d'énergie interne $(U_1 - U_2)$ porte donc sur l'embryon formé, et il est impossible de calculer U'. *C'est qu'il n'y a pas formation de matière organisée* ; il n'y a pas croissance à proprement parler. Tout au plus se produit-il des transformations internes dont le détail n'entre pas en compte.

En résumé, nous devons distinguer, non seulement entre les œufs à vitellus abondant ou à vitellus peu développé, mais encore et surtout entre les œufs à segmentation totale ou à segmentation partielle.

Nous devons ensuite considérer un œuf non plus comme une cellule, mais comme un système chimique en voie de transformation ; ceci veut dire qu'avant d'aborder le problème par son côté thermodynamique il importe de l'examiner par son côté chimique, et que rien de ce qui concerne la composition de l'œuf ne doit être négligé.

3. **Œuf d'Ascaris.** — Nous choisirons comme premier exemple le cas de l'œuf d'*Ascaris megalocephala* (Fauré-Fremiet 1913).

A la fin de sa période de croissance, l'oocyte d'*Ascaris* à l'état d'*équilibre de maturation* est une cellule dont le cytoplasma renferme de nombreuses inclusions vitellines : cristalloïdes et boules hyalines de Van Beneden. La composition totale de l'œuf se détaille comme suit :

Eau	75 %
Glycogène	5,2
Lipoïdes totaux	5,8
Cendres	0,67
Albuminoïdes (calculés par différence)	13,33

Les corps lipoïdes constituent 21 à 22 % du poids sec de l'œuf et comportent :

Phosphatides	3,18 à 3,2
Éther ascarylique	15,5 à 15,8
Acides gras fixes	2,4 à 2,6
Cholestérine	0,1 à 0,12

L'éther ascarylique, qui constitue les cristalloïdes de Van Beneden (voir Fauré-Fremiet 1913 et 1916) a un P. F. de 39° C ; c'est un éther formique de l'acide-alcool ascarylique dont le P. F. est de 82° C et dont la composition serait : $C^{20}H^{40}O^2$ d'après Leroux ou $C^{32}H^{64}O^4$ d'après Flury.

La pénétration du spermatozoïde détermine des transformations complexes sur lesquelles nous ne pouvons insister ici ; disons seulement que la majeure partie du glycogène, après une hydrolyse probable, se retrouve sous forme de glycosamine dans une membrane épaisse et hyaline qui se forme à la surface de l'oocyte. Pendant ce temps, l'éther ascarylique est saponifié et l'acide-alcool à point de fusion élevé est mis en liberté. Mais il existe dans le spermatozoide un albuminoïde particulier qui constitue le corps réfringent

conique (1) ; celui-ci se dissout lentement dans le cytoplasma alcali de l'œuf et détermine, comme on peut s'en assurer *in vitro*, un abaissement de la tension superficielle. L'œuf, en temps que masse protoplasmique, subit une sorte de contraction et expulse toutes ses inclusions : les lamelles cristallines d'alcool ascarylique forment au-dessous de la membrane chitineuse une lame feutrée, bien décrite par Van Beneden, imperméable aux liquides aqueux ; les boules hyalines (2) sont expulsées en dedans de cette nouvelle membrane, et l'œuf proprement dit n'est plus qu'une masse sphérique dont le volume est égal à $2{,}8.10^{-7}$ cm³. Le cytoplasma ne renferme plus, en dehors du chondriome, que quelques granulations graisseuses formées au cours des transformations précédentes. Cet état, désigné sous le nom d'équilibre de copulation, est stable en l'absence d'oxygène, c'est-à-dire que l'œuf peut demeurer plusieurs mois avec ses deux pronucléus côte à côte dans une sorte de vie latente et donner une segmentation normale sitôt mis en contact avec de l'oxygène (3).

L'état d'équilibre de copulation représente, au point de vue des phénomènes du développement, l'état initial. A cet état l'œuf total contient 5.680 calories (4) par gramme de substances sèches.

Si nous plaçons cet œuf au contact de l'oxygène, les combustions respiratoires vont commencer aussitôt, ainsi que la segmentation ; celle-ci, en un temps qui dépend uniquement de la température, aboutit à la formation d'une larve vermiforme, pelotonnée à l'intérieur des membranes ; c'est l'état final.

Du fait des échanges respiratoires, l'œuf a perdu, entre ces deux états initial et final, 5,67 % de son poids (détermination directe) ; la mesure des échanges respiratoires indique une perte en carbone de 2,3 % et une perte en eau de 3,3 à 3,4 % suivant que l'on effectue le calcul pour la combustion des graisses ou pour la combustion du glucose ; soit un total de 5,6 à 5,7 qui vérifie exactement la mesure directe. Les dosages indiquent, d'autre part, une perte en matières

---

(1) Cet albuminoïde, qui peut être isolé et purifié, a été décrit sous le nom d'*Ascaridine ;* dans un travail publié en 1915, Zavadovsky a reconnu la nature « lipoïde » particulière de la membrane interne de l'œuf d'*Ascaris* dont il nomme la substance « ascaridine », créant ainsi une confusion.

(2) Ces boules hyalines contiennent un phosphate de chaux et des substances organiques ; elles sont fréquemment entourées d'une couche lipoïde constituée probablement par des savons calciques insolubles.

(3) L'œuf à l'état d'équilibre de copulation subit cependant des variations très lentes, en milieu anaérobie. Il semble en particulier qu'il puisse y avoir synthèse des nucléines car le nombre des chromosomes peut être considérablement augmenté. Voir Fauré-Fremiet (1913).

(4) Nous prendrons maintenant comme unité la petite calorie, soit 0,001 Cal.

grasses de 4,0 % et une perte en glycogène de 1,1 %, soit encore un chiffre voisin, 5,1 %.

Si l'on veut calculer la perte d'énergie, il faut tenir compte de cette perte de poids et rapporter la chaleur de combustion de l'œuf à l'état final, au poids qu'il possédait à l'état initial.

On trouve alors :

	calories-grammes
État initial	5.680
État final	5.400
Différence	280

Mais les enveloppes de l'œuf immobilisent une certaine quantité d'énergie qui ne participe pas aux transformations ; d'autre part, il faut compter la chaleur de formation de l'acide carbonique dégagé, soit environ 280 cal. ; on peut alors dresser le tableau suivant :

	État initial	État final
Membranes de l'œuf — Ac. ascarylique	1.200 cal.	1.200 cal.
Membranes de l'œuf — Glycosamines	480 cal.	480 cal.
Masse protoplasmique	4.000 cal.	Embryon 3.720 cal.
		CO^2 formé 280 cal.
Total	5.680 cal.	5.680 cal.

La comparaison de ces chiffres montre que, dans les conditions de l'expérience, toute l'énergie transformée a dû se dissiper en chaleur correspondant à la formation de l'acide carbonique, à moins que la quantité d'énergie intégralement transformée en travail d'organisation soit assez faible pour être de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales.

Nous devons insister sur un autre point ; ces chiffres montrent encore que cette perte d'énergie ne correspond à aucune croissance ; l'embryon n'est pas autre chose que la masse protoplasmique de l'œuf, réorganisée, mais diminuée ; son potentiel énergétique est abaissé, et c'est seulement l'*hétérogénéité du système à l'état final* qui se trouve accrue, à la suite des transformations énergétiques de la segmentation.

4. **Œuf de Grenouille.** — L'examen cytologique de l'oocyte mûr de Grenouille (*Rana temporaria*) montre l'existence de nombreuses inclusions dans le cytoplasma : tablettes vitellines, globules graisseux, granules pigmentaires. Le cytoplasma contient à l'état dissous (1) un peu de glycogène.

(1) Voir, au sujet de l'analyse microchimique de cet œuf, Konopacki (1924).

La composition centésimale de l'œuf correspond aux chiffres suivants :

	Fauré-Fremiet et Du Vivier de Streel (1921)	Terroine et Barthélemy (1921)
Eau	57,60	59,30
Glycogène	3,31	
Lipoïdes totaux	10,14	10,87
Tablettes vitellines	26,51	
Substances protéiques		27,90
Totaux	97,56	98,07

Les tablettes vitellines, qui constituent la presque totalité des substances protéiques (le cytoplasma et le noyau ne forment qu'une minime partie de l'œuf) peuvent être isolées par centrifugation, lavage à l'eau, puis à l'alcool et à l'éther ; une méthode analogue avait été employée par Frémy et Valencienne (1857) (voir Fauré-Fremiet et Du Vivier de Streel (1921), Fauré-Fremiet et Dragoiu (1923).

Ainsi préparées, elles se présentent avec le même aspect qu'*in vivo*, c'est-à-dire comme des cristalloïdes plats, rectangulaires, à angles mousses. Elles retiennent encore 9 % d'eau. L'analyse des tablettes donne :

Azote = 16,43 % (méthode de Kjeldhal)
Phosphore = 1,36 % (méthode de Neumann)

Les tablettes vitellines sont entièrement solubles dans HCl concentré, et partiellement solubles dans NaCl à 10 % ou dans les solutions de carbonate de soude, de KOH ou de NaOH $\frac{N}{20}$. On obtient alors une solution opalescente et un résidu solide.

La solution opalescente n'est pas précipitée par un excès de NaCl ; elle est en grande partie précipitée par neutralisation, mais le précipité se redissout dans un léger excès d'acide acétique.

La fraction soluble est légèrement acide.

La fraction insoluble en milieu alcalin reste soluble dans HCl ; elle présente une grande résistance à l'hydrolyse par les acides forts et par les bases.

L'analyse de ces deux fractions, dont il est d'ailleurs très difficile d'effectuer qualitativement et quantitativement la séparation totale, donne les chiffres suivants :

Fraction soluble...	N = 16,05 %	P = 3,06 %	Fe = 0
Fraction insoluble.	N = 15,4 %	P = 0,88 %	S = 0,38 %

La fraction soluble, riche en phosphore, et dont on peut isoler

53 % des tablettes, est une vitelline, c'est-à-dire une paranucléoprotéide, comparable à la « ranovine » isolée par GALIMARD (1904) à partir de l'œuf total.

La fraction insoluble, dont on isole environ 37 % des tablettes, serait surtout caractérisée par sa grande résistance et par la présence du soufre ; elle appartiendrait à la catégorie des kératines, et son phosphore n'est peut-être que le témoin d'une purification incomplète.

L'étude des lipoïdes totaux donne les chiffres suivants rapportés au poids sec de l'œuf.

	FAURÉ-FREMIET et DU VIVIER DE STREEL	TERROINE et BARTHÉLEMY
Acides gras fixes.....	20,8	21,0
Cholestérine.....	1,43	1,52
Insaponifiable X.....	1,70	4,1
TOTAUX.....	23,93	26,62

Les lipoïdes phosphorés, précipitables par l'acétone, sont calculés d'après le phosphore lipoïdique total ; on trouve :

Phosphatides.....	5,98
Graisses neutres (par différence).....	14,82

Parmi les acides gras fixes, FAURÉ-FREMIET et DU VIVIER ont isolé et caractérisé l'acide myristique (P. F. 53°,8) et ont isolé un acide ou un mélange d'acides liquides à deux doubles liaisons (série linoléique). Les indices d'iode trouvés par PARNAS vérifient ce fait. La proportion d'acide myristique serait d'environ 4 pour 16 d'acides non saturés.

Les tablettes vitellines ne donnant pas de produits réducteurs par hydrolyse, le glycogène peut être dosé par la méthode de BIERRY et GRUZEWSKA, celle de PFLÜGER étant presque inapplicable à un objet aussi complexe que l'œuf de Grenouille. On trouve 7,81 de glycogène par rapport au poids sec de l'œuf.

La chaleur de combustion de l'œuf ovarien mûr de *Rana temporaria* est, à 0,7 % près, de 6237 cal-gramme.

L'œuf, en passant dans les trompes, s'entoure d'une gaine de mucine avec laquelle il est pondu ; cette substance a été étudiée par GIACOSA (1888), SCHULZ et DITHORN (1900) ; on y a caractérisé la galactosamine.

La composition globale de l'œuf pondu est la suivante :

Œuf.....	Substances sèches....	18,30	= 43,3
	Eau	25,00	
Enveloppe...	Substances sèches....	11,70	= 56,7
	Eau	45,00	

La fécondation ne détermine pas dans l'œuf de Grenouille les

importantes transformations chimiques constatées dans l'œuf d'*Ascaris*, et la segmentation commence aussitôt. Les échanges respiratoires pendant la segmentation ont été suivis par Bataillon (1897), Bialaszewicz et Bielowski (1915). Ces derniers auteurs ont utilisé l'appareil de Thunberg-Winterstein pour leurs mesures. Celles-ci montrent tout d'abord que les œufs non fertilisés, pris dans les oviductes, éliminent une assez grande quantité de CO^2. Après 170 minutes, cette émission se trouve ramenée à un taux normal ; comme elle se produit aussi bien dans une atmosphère d'hydrogène ou de CO, il est infiniment probable qu'il s'agit d'une élimination de CO^2 par diffusion qui précède l'établissement de la respiration normale (1). L'analyse des gaz extraits des œufs utérins placés sous le mercure donne en effet 35 à 52 % de CO^2.

Après cette période, les œufs non fécondés absorbent 21,6 cm^3 d'oxygène par kilog. et par heure, soit 10 fois moins que les différents tissus de Grenouille.

Après la fécondation, la consommation d'oxygène augmente progressivement, soit d'environ 10 % par heure. Cette consommation s'accroît donc plus vite que le temps ; elle est 38 fois plus forte après 142 heures ; cette augmentation suit une courbe parabolique de la forme $x = Kt^2 + a$, a étant la vitesse des oxydations à l'état initial (œuf vierge).

Après la décharge d'acide carbonique, le quotient respiratoire de l'œuf vierge est très bas, $\frac{CO^2}{O^2} = 0{,}64$, à 0,60, alors que le quotient respiratoire correspondant à la combustion des graisses ne descend pas au-dessous de 0,72. L'œuf serait donc, au début, le siège d'oxydations incomplètes ou de processus hydrolytiques. Ces processus continueraient encore après la fécondation, car le Q. R. reste d'abord fixé entre 0,51 et 0,68 ; il se relève ensuite en même temps que le taux des oxydations. Remarquons que la détermination quantitative de CO^2, indispensable pour le calcul du Q. R., est toujours sujette à de nombreuses causes d'erreurs. Il n'en demeure pas moins que la fécondation n'interrompt pas le mode respiratoire des œufs non fécondés ; avant comme après ce phénomène, l'œuf oxyde incomplètement, semble-t-il, ses réserves graisseuses ; mais *au cours du développement normal*, des processus nouveaux apparaissent peu à peu (2).

Parnas et Krasinska (1921) ont étudié chez *Rana temporaria* et *R. esculenta* la consommation d'oxygène seul au cours du déve-

(1) Ce fait est à rapprocher de l'hypothèse de Bataillon, d'après laquelle l'œuf mûr serait inhibé par l'acide carbonique.

(2) L'apparition de ferments a donné lieu à diverses recherches.

loppement. Ils se sont servis de l'appareil de WARBURG et du manomètre de BARCROFT.

Les oxydations sont d'abord faibles et indépendantes de la tension partielle de O^2, c'est-à-dire que les résultats sont les mêmes dans l'air ou dans O^2 pur. Cette première période du développement englobe les stades blastula et gastrula.

L'augmentation des oxydations commence au stade neurula (fig. 32) ; à partir de ce stade, la tension partielle de O^2 intervient dans l'intensité des échanges respiratoires. La diffusion de l'oxygène dans les enveloppes de l'œuf semble d'ailleurs jouer un rôle.

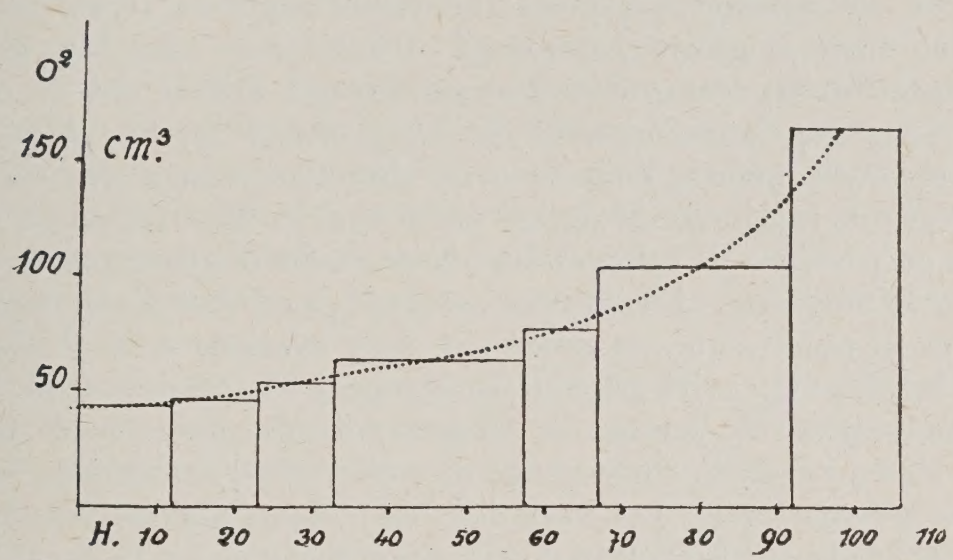


FIG. 32. — Variation de la consommation d'oxygène par heure pour 1000 œufs de Grenouille au cours du développement embryonnaire, d'après PARNAS et KRASINSKA.

PARNAS pense que le premier stade de la segmentation pourrait être presque anaérobie, ou s'effectuer tout au moins avec des oxydations très faibles. Ceci doit être rapproché des oxydations incomplètes qui sont probables d'après le rapport $\frac{CO^2}{O^2}$ trouvé par BIALASZEWICZ. AMELING (1908) montre qu'au premier stade du développement, l'œuf résiste bien au manque d'oxygène ; ce fait se retrouve aussi, bien que moins accentué, pour l'œuf de Crapaud.

Enfin, PARNAS montre qu'au premier stade, la sensibilité de l'œuf de Grenouille à diverses substances est très faible, tandis qu'à partir du stade neurula elle devient notable.

Pendant la formation des feuillets germinatifs, l'absorption d'oxygène varie peu, mais elle augmente à nouveau lors de la formation des branchies externes qui marquent le début d'une troisième période.

Les chiffres de PARNAS et KRASINSKA montrent qu'un œuf consomme jusqu'à l'éclosion 0,039 milligrammes de O^2. Ceci correspond

au maximum à la formation de 0,054 milligrammes de CO^2, soit 0,0146 de carbone.

Un têtard, à l'éclosion, pèse en moyenne 2 milligrammes et renferme 0,3 milligrammes de C. C'est donc 5 % seulement de cette quantité qui disparaîtrait au cours de la segmentation. Ce chiffre est extrêmement faible.

Chambers (1908) calcule que, dans une même ponte de Grenouille, la grosseur des œufs peut varier dans le rapport de 1 à 3 sans aucune relation ni avec la taille de la mère, ni avec la température à laquelle elle a vécu. Les petits œufs tendent à se développer plus vite que les gros, les vitesses s'égalisent ultérieurement, et il existe une relation entre la grosseur des œufs et la grosseur des têtards (1).

Fauré-Fremiet et du Vivier de Streel (1921) ont tenté de suivre par des mesures pondérales les transformations subies pendant le développement embryonnaire chez *Rana temporaria*. Comme la gangue de mucine se désagrège peu à peu, les mesures sont impossibles en présence de celle-ci, d'où la nécessité d'opérer par comparaison de moyennes obtenues sur des œufs provenant d'animaux différents. Il semble que les poids des œufs ovariens mûrs, lorsqu'ils tombent dans la cavité générale, se groupent très étroitement autour de deux valeurs moyennes. Il y aurait donc des œufs lourds et des œufs légers auxquels correspondent, à l'éclosion, des têtards lourds et des têtards légers. Les variations de volume suivent les variations de poids, ce qui montre que la composition de ces œufs est semblable. Les chiffres obtenus donnent les moyennes suivantes :

	Poids humide (Milligrammes)	Poids sec (Milligrammes)
Œufs mûrs :	—	—
Légers	3,41	1,55
Lourds	4,16	1,90
Têtards à l'éclosion :		
Légers	3,80	1,20
Lourds	5,22	1,65

En joignant deux à deux les chiffres maximums et les chiffres minimums, on obtient pour les poids humides deux lignes légèrement ascendantes, accusant un accroissement de +0,39 et de +1,06 milligrammes entre l'œuf mûr et le têtard à l'éclosion.

Pour le poids sec on trouve deux lignes descendantes sensiblement parallèles qui accusent une perte de substances de —0,25 et de —0,35.

Les calculs sont simplifiés en les ramenant au poids d'un *œuf moyen* ou d'un *têtard moyen*.

(1) Les gros têtards provenant des gros œufs ayant des cellules plus grosses ; ceci nous ramène au problème de la taille cellulaire (chapitre II).

A la température de 16°-18°, un œuf moyen perd 0,300 milligrammes soit 17 % de son poids sec en 7 jours, c'est-à-dire entre la fécondation et l'éclosion.

En admettant que cette perte de poids résulte de l'oxydation des réserves graisseuses ou hydrocarbonées, c'est-à-dire de la transformation intégrale de ces substances en CO^2 et H^2O, une partie de ce poids seulement correspond à une perte de carbone. Mais le calcul montre que cette quantité exigerait cependant, pour être transformée en CO^2, 7 à 9 fois plus d'oxygène que l'œuf n'en absorbe dans le même temps d'après les mesures de Parnas.

Il est vrai que Bialaszewicz et Minc (1921) signalent une élimination d'azote sous la forme d'ammoniaque, mais celle-ci est insuffisante pour rendre compte d'une discordance aussi forte. La seule conclusion admissible, en supposant les déterminations exactes de part et d'autre dans la mesure que l'on peut attendre de ces recherches difficiles, est que les combustions incomplètes prévues par Bialaszewicz et correspondant au stade quasi-anaérobie de Parnas, amènent la formation de produits volatils qui sont éliminés par la dessiccation à poids constant.

L'étude chimique effectuée par Fauré-Fremiet et du Vivier de Streel montre que la perte de poids se répartit de la manière suivante, les chiffres étant rapportés au poids moyen de l'unité œuf-têtard (à l'éclosion) :

	Œuf (Milligr.)	Têtard (Milligr.)	Variation pondérale (Milligr.)	Variation en petites calories
	—	—	—	—
Eau	2,3620	3,0840	+0,722	
Lipoïdes	0,4127	0,3002	—0,1125	—1,070
Glycogène	0,1347	0,0789	—0,0558	—0,234
Vitelline	1,0700	1,0459	—0,1317	—0,648
Reste	0,0996			
Total				—1,952

Une nouvelle contradiction apparaît entre ces résultats et ceux de Parnas, qui trouve les valeurs suivantes pour les acides gras de l'œuf et du têtard à l'éclosion, pris dans une même ponte :

	Acide gras de l'œuf	Acide gras du têtard
	—	—
Méthode de Kumagawa	0,283	0,2835
Méthode de Liebermann	0,336	0,335
Méthode de Liebermann	0,322	0,343

L'indice d'iode des acides gras totaux est pour l'œuf de 106,4 et pour le têtard de 104. Le poids moléculaire moyen est de 362 pour l'œuf, de 364 pour le têtard.

Il résulte de ces derniers chiffres que *les graisses ne seraient pas utilisées pendant le développement embryonnaire.* Seules, les lécithines auraient diminué, comme le montre la comparaison des valeurs du phosphore lipoïdique chez l'œuf et chez le têtard. Mais cette diminution correspondrait à la synthèse des nucléines, d'après l'hypothèse toujours citée mais jamais vérifiée de J. Loeb.

Voici les chiffres obtenus par Fauré-Fremiet et du Vivier de Streel qui accusent au contraire une différence entre l'œuf et le têtard :

ŒUFS OVARIENS MURS

Méthode	Extrait total (grammes)	% du poids sec
Saponification totale de Kumagawa.	0,804	22,1
— — —	0,990	24,08
— — —	5,585	23,95
— — —	0,744	23,77
Extraction alcool et éther.....	8,01	25,8

TÊTARDS A L'ÉCLOSION

Saponification totale de Kumagawa.	0,509	21,77
— — —	0,541	20,37
Extraction alcool et éther.....	0,608	21,6

Les indices d'iode ont donné les valeurs suivantes ; œufs : 123 et 123 ; têtards : 114 et 112. Ces chiffres permettent de calculer d'après l'indice d'iode des acides non saturés, que la perte de poids des substances grasses se répartirait approximativement de la manière suivante :

Acide myristique.....	2,7 %
Acides non saturés.....	30,0 %

Les lécithines ne formeraient plus que 20 % des lipoïdes totaux chez le têtard, contre 25 % dans l'œuf. La conclusion de ces chiffres est la suivante : en attendant de nouvelles recherches, il semble que les graisses ont été partiellement transformées pendant le développement embryonnaire, surtout en ce qui concerne les acides non saturés et les phosphatides. Mais il demeure possible que leur combustion incomplète ait donné naissance à des produits volatils éliminés au cours des dosages.

Le glycogène, lui aussi, semble avoir brûlé en partie.

Enfin, les réserves de vitelline elles-mêmes accusent une diminution ; mais Bialaszewicz a précisément constaté une excrétion ammoniacale d'azote.

La perte totale atteint près de 2, exactement 1,952 calories ; mais si des produits volatils se sont réellement formés. ce chiffre ne repré-

sente plus la variation *physiologique* de l'énergie interne, mais seulement une valeur arbitraire due aux méthodes employées. C'est là que de nouvelles recherches seront nécessaires

Quelles sont les transformations morphologiques qui s'effectuent pendant ces transformations chimiques ?

En premier lieu, le système a absorbé de l'eau ; par des mesures très minutieuses et très délicates, Bialaszewicz (1912) a montré que l'eau s'accumule non point dans le protoplasma *mais entre les cellules*, dans les cavités de segmentation. Backmann et Runnström (1912) montrent, par la cryoscopie, un brusque relèvement de la pression osmotique qui explique cet accroissement de la quantité d'eau passant, nous l'avons vu, de 2,362 milligrammes à 3,084, ou par rapport à 1 gramme de substance sèche, de 1,35 à 2,16. L'origine de cet accroissement de pression osmotique serait (voir p. 154) soit dans une modification de l'état colloïdal du cytoplasma capable de libérer des ions adsorbés, soit dans la scission des grosses molécules ; l'oxydation incomplète des acides gras par exemple produirait un tel résultat.

En second lieu, les processus d'organogenèse ont commencé et la segmentation a transformé le système primitif relativement simple en un système dont l'hétérogénéité est considérablement augmentée puisque sa masse est fragmentée en une multitude de cellules constituant des organes et des ébauches d'organes ; et même si nous nous trouvons dans l'impossibilité de calculer avec précision la variation correspondante de l'énergie interne, nous savons cependant que chez la Grenouille comme chez l'*Ascaris* le potentiel énergétique du système a diminué ; dans un cas comme dans l'autre, cependant, nous ne pouvons calculer le rendement brut, parce qu'il n'y a pas formation de substances nouvelles immobilisant une partie U′ de la perte totale d'énergie (U_1—U_2).

Mais l'évolution du système se poursuit dans le cas de la Grenouille, au delà de l'état d'œuf segmenté, après l'éclosion du jeune têtard, suivant un mode nouveau.

Schaper (1902) a déterminé la courbe de l'accroissement pondéral du têtard depuis la naissance jusqu'à la métamorphose, et celle de l'accroissement de quelques catégories de ces constitants : eau, substances sèches, cendres. Ces courbes sont continues ; or, on sait que le têtard commence à se nourrir deux jours après l'éclosion. Mais Davenport (1897) a montré par des mesures précises que l'accroissement du têtard après l'éclosion est dû essentiellement à la fixation d'eau, qui arrive bientôt à constituer plus de 90 % du poids du corps (fig. 33) ; Schaper vérifie ce fait remarquable, et Backmann et Sundberg (1912) montrent que la pression osmotique

revient après 20 jours à sa valeur normale, sa courbe de variation suivant de près la courbe de l'hydratation tracée par DAVENPORT.

La nutrition, aux dépens d'aliments extérieurs est-elle nécessaire pendant cette période d'hydratation progressive ? FAURÉ-FREMIET et DRAGOIU ont mis des têtards au jeûne dans l'eau pure sitôt après l'éclosion, et en les séparant par petit nombre dans des cristallisoirs afin de savoir, par des numérations fréquentes, si quelques-uns d'entre eux ne servaient pas de nourriture aux survivants. Un lot d'individus était prélevé périodiquement afin de déterminer le poids humide.

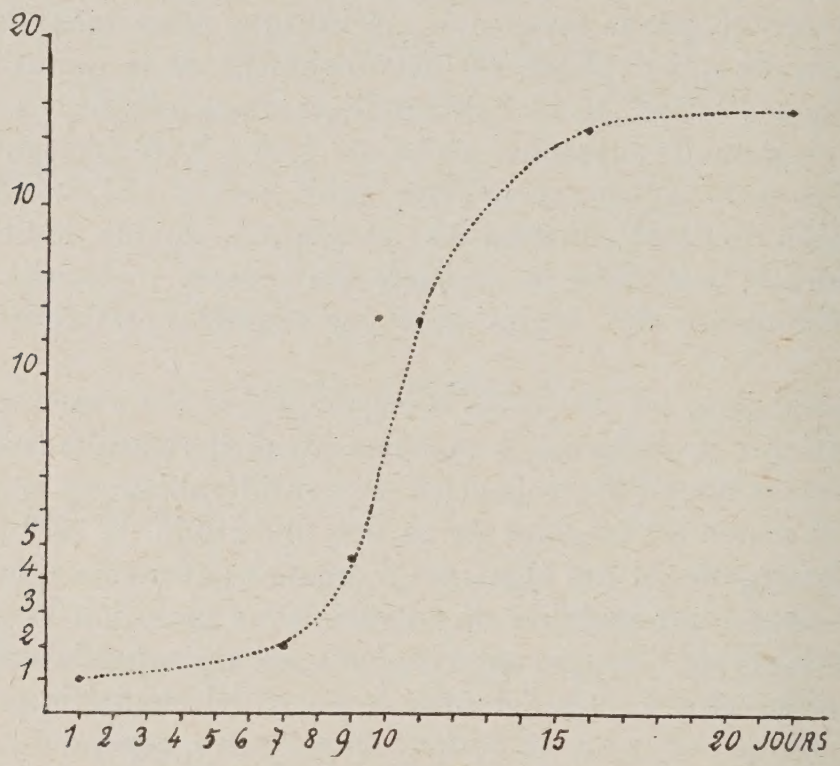


FIG. 33. — Variation de l'eau d'imbibition pendant le développement de l'œuf et du têtard de Grenouille. Chiffres rapportés à un gramme de substances riches.

puis le poids sec, poids calculés ensuite pour un individu moyen.

La croissance des têtards se poursuit dans ces conditions pendant une dizaine de jours, puis se ralentit jusqu'au 12e jour (fig. 34), mais cette croissance se fait bien uniquement par absorption d'eau car, *pendant toute cette période, le poids sec diminue progressivement* et d'une manière continue.

L'accroissement du têtard par hydratation s'effectue suivant une courbe en S ; ce qui signifie que la vitessse de croissance passe par un maximum.

A la fin de la croissance à jeun, le têtard contient :

Eau.....	17 ,864 milligrammes.
Substances sèches...	1 ,000 = 5 ,5 calories.

Depuis l'éclosion, on enregistre donc une perte de 0,425 milligramme de substances sèches correspondant à 3,306 calories.

On peut démontrer qu'une perte minimum de 0,046 milligramme et 0,126 calorie doit porter sur les albuminoïdes. Bialaszewicz et Minc (1921) montrent une élimination d'azote, en partie sous forme d'ammoniaque ; pendant cette période il est donc possible, ici encore. que les vitellines ne soient pas brûlées et que la perte apparente de poids sec et de calories résulte de la formation de substances

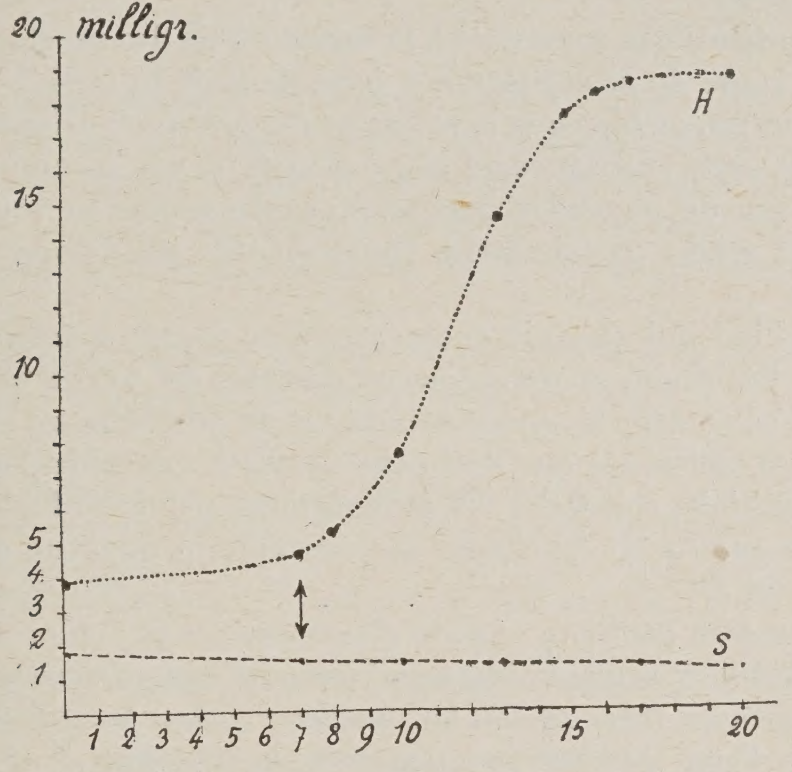


Fig. 34. — Variation moyenne de poids sec S et de poids humide H de l'œuf et du têtard de Grenouille. Croissance « autophagique ». Temps compté en jours. La flèche indique l'éclosion.

volatiles ou solubles dans l'eau, au lieu de représenter, comme on pourrait s'y attendre, une quantité d'énergie utilisée.

D'importantes transformations morphologiques s'effectuent pendant cette période du développement ; les cellules se multiplient, l'édification des tissus et des organes se poursuit et s'achève. Au point de vue cytologique, les plaquettes vitellines que la segmentation avait réparties entre les cellules disparaissent peu à peu. Herlitzka (1898) a étudié cette transformation. Que deviennent-elles et où se fixe l'énorme quantité d'eau absorbée par le jeune têtard ? Le calcul permet de répondre à cette question aussi bien que l'observation cytologique.

Les seules substances hydratées de l'œuf sont le cytoplasma et le

noyau qui, estimés par différence, représentent environ 0,0996 milligr. et le glycogène, soit 0,1347 ; le total atteint 0,2343 milligr.

Si l'on rapporte l'eau ovulaire, non point à l'ensemble des substances sèches de l'œuf mais aux substances hydratées seules, on voit que le cytoplasma et le noyau, en dehors des globules huileux et des tablettes vitellines qui renferment seulement 7 % d'eau, renferment 88 %. d'eau. *Le cytoplasma de l'œuf de Grenouille est donc, contrairement à ce que l'on peut penser tout d'abord, assez fortement hydraté.*

La quantité d'eau rapportée à la masse totale des substances sèches passe au cours de la croissance à jeun de 57,8 % à 94,7 %. Il faut donc admettre, ou bien que la masse protoplasmique primitive atteint à la fin de cette croissance un degré d'hydratation inconnu jusqu'ici, ou bien que de nouvelles masses protoplasmiques se sont formées, ce qui est rendu parfaitement vraisemblable par l'observation histologique.

La vitelline qui existait encore en très grande quantité dans le têtard, à l'éclosion, est une réserve d'azote, de soufre et de phosphore qui se transforme progressivement en protoplasma au cours de la première croissance que l'on peut nommer « autophagique ». Si la quantité initiale, soit 0,8 à 0,9 milligramme par têtard s'est hydratée peu à peu à 95 % d'eau, on retrouve la quantité d'eau fixée par la larve.

La croissance que nous venons d'examiner et qui dure 12 *jours à* 16°-18° *est donc bien une croissance véritable, puisque des tissus nouveaux se sont organisés, mais on doit la considérer comme la suite du développement de l'œuf, puisque aucun apport de substance ni d'énergie ne sont nécessaires.*

La diminution du potentiel énergétique suit exactement la diminution du poids sec. Il faudrait savoir, par de nouvelles recherches plus précises et en utilisant les données de calorimétrie directes obtenues par Gayda (1920 et 1921), quelle est réellement la quantité d'énergie transformée au cours du développement embryonnaire et de cette croissance autophagique.

De toute manière, l'utilisation de cette énergie doit être assez différente au cours de ces deux périodes successives.

Dès l'état initial, l'œuf respire ; les manifestations « dynamiques » de la fécondation lui permettent d'utiliser l'énergie libérée et d'en transformer une partie en travail morphogénique : segmentation et organogenèse, c'est-à-dire augmentation des surfaces et de l'hétérogénéité ; à ce travail succède, lorsque les oxydations sont plus développées (Parnas), un travail de croissance proprement dit ou de synthèse chimique.

5. **Œuf de Sabellaria**. — (Fauré-Fremiet 1921-1924). La composition de l'œuf de *Sabellaria alveolata* à l'état initial, c'est-à-dire au moment de la ponte donne :

Eau	70,0
Substances protéiques (N × 6,25)	19,08
Lipoïdes totaux	6,80
Glycogène	1,27
Cendres	1,53
Total	98,67

L'étude histochimique, comme les tentatives de séparation par centrifugation des éléments figurés du cytoplasma, montre qu'une partie des substances azotées est constituée par des globules vitellins consistants et comportant une vitelline proprement dite, ou paranucléoprotéide soluble en milieu alcalin, et une autre substance plus résistante.

Les substances lipoïdes constituent environ 20,5 % des substances sèches ; elles se décomposent de la manière suivante :

Savons	5
Phosphatides	2,5
Graisses neutres	8 à 9
Cholestérine	1,81
Insaponifiable X	2,16

La masse protoplasmique est assez développée par rapport aux réserves vitellines.

L'œuf de *Sabellaria*, non fécondé, respire sitôt après la ponte ; à 19° C, 100 grammes d'œufs frais absorbent 30 milligrammes d'O^2 en 100 minutes (dosages effectués par la méthode de Winckler et de Levi-Marboutin).

Après la fécondation, l'absorption d'oxygène augmente dans une proportion très minime, passant de 30 à 38 milligrammes de O^2 en 100 minutes et pour 100 grammes. Nous retrouvons ici le même phénomène que chez l'œuf de Grenouille, et, comme dans ce cas aussi, l'accroissement de la consommation d'oxygène augmente régulièrement et un peu plus vite que le temps.

Entre 18° et 20° la segmentation aboutit en 48 heures à la constitution de larves nageuses. La perte de poids calculée d'après les échanges respiratoires, et la perte en C et en H^2O est de $\pm$ 1,9 % du poids sec, c'est-à-dire de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales. Il est d'ailleurs très difficile d'établir un bilan quelconque dans le cas de ces œufs à développement rapide, et nous nous contente-

rons de remarquer que l'œuf non fécondé absorbe beaucoup d'oxygène et montre différents signes d'activité chimique ; mais celle-ci conduit à la cytolyse, c'est-à-dire à la destruction des conditions normales de l'équilibre cellulaire. La fécondation, ou l'activation expérimentale, qui déterminent le développement normal de l'œuf sans produire de grosses modifications cytologiques ni chimiques, semblent donc permettre l'utilisation de l'énergie libérée pour la réalisation des processus morphogéniques.

Le cas de l'œuf de *Sabellaria* nous met donc en présence d'un nouveau problème . le potentiel énergétique de l'œuf diminue de toute manière sitôt après la ponte, mais dans un cas, cette perte d'énergie ne correspond pas à un travail compatible avec la vie, et l'œuf se cytolyse ; tandis que, après la fécondation, cette même perte d'énergie correspond, dans une proportion actuellement non déterminée, à un travail morphogénique, dont le principal résultat est toujours une augmentation de l'hétérogénéité du système.

6. **Œuf d'Oursin.** — La composition chimique de l'œuf d'Oursin n'a pas été l'objet d'une étude systématique, ce qui paraît étrange étant donné l'importance biologique de ce matériel.

Par contre, la respiration de l'œuf avant la fécondation et au cours de la segmentation a fait l'objet de diverses recherches.

Warburg (1908-1914 et 1915) montre qu'avant la fécondation l'œuf d'Oursin consomme en une heure, à 20°, 0,05 à 0,06 milligramme d'oxygène pour 28 milligrammes d'azote. Après la fécondation, l'augmentation est importante, dans le rapport de 1 à 6 ou à 7. Les travaux ultérieurs de J. Loeb et Wasteneys (1911) et de Meyerhof (1911) confirment ce fait.

Schearer (1921) effectue à l'aide de l'appareil de Barcroft des mesures très rapprochées de l'absorption d'oxygène, et il constate que, si l'on considère des temps courts, l'accroissement du taux des oxydations est beaucoup plus considérable que ne l'avait trouvé Warburg et peut atteindre, sitôt après l'action du spermatozoïde, 80 fois la valeur initiale. Le quotient respiratoire est voisin de 0,92, indiquant ainsi la combustion de substances hydrocarbonées.

Mais le résultat remarquable des expériences de Schaerer est celui-ci : l'augmentation des oxydations *n'est pas déterminée par la fécondation*, mais seulement *par le premier contact du spermatozoïde avec les enveloppes de l'œuf*. La pénétration dans le cytoplasma s'effectue 10 à 15 minutes après ce moment, alors que le taux de l'absorption d'oxygène, après être monté comme il a été dit tout à l'heure, diminue déjà pour se rapprocher de la valeur trouvée par Warburg.

Au début de la première division, Schaerer constate un nouvel accroissement de l'absorption d'oxygène, et de telles variations sont à rapprocher de celles que Vlès signale pour l'émission de CO^2 au cours des diverses mitoses.

Meyerhof (1911), grâce au simple dispositif expérimental d'un vase Dewar et d'un thermomètre Beckmann, met en évidence un accroissement notable de la chaleur dégagée par les œufs sitôt après le premier contact avec le spermatozoïde. Mais il constate une semblable augmentation chaque fois que la membrane de l'œuf est altérée ; cela veut dire que l'agitation mécanique, l'action des agents cytolytiques, la simple absence des ions Ca ou K, suffisent pour augmenter les oxydations de l'œuf d'Oursin.

Schearer (1922) a fait également sur l'œuf d'Oursin des mesures de la chaleur dégagée pendant la segmentation ou avant la fécondation à l'aide d'un microcalorimètre différentiel. Il constate que la chaleur dégagée augmente proportionnellement à la consommation d'oxygène. Le rapport de la chaleur dégagée à l'oxygène consommé est égal à 3,07 chez l'œuf non fécondé, et à 3,22 chez l'œuf en voie de segmentation.

Comparons l'absorption d'oxygène chez l'œuf de *Sabellaria* et l'œuf d'Oursin, en prenant comme unité 1 gramme d'azote :

Œuf de *Sabellaria*...	non fécondé..	1 gr. N absorbe 20 milligr. O^2 en 100 m.
Œuf de *Sabellaria*...	fécondé.....	1 gr. N absorbe 22 milligr. O^2 en 100 m.
Œuf d'Oursin.....	non fécondé..	1 gr. N absorbe 3 milligr. O^2 en 100 m.
Œuf d'Oursin.....	fécondé.....	1 gr. N absorbe 24 milligr. O^2 en 100 m.

On est frappé, en comparant ces chiffres, moins par l'accroissement des oxydations déterminé par la fécondation de l'œuf d'Oursin, que par la faiblesse de l'absorption d'oxygène par cet œuf non fécondé. *Comme, d'autre part, l'augmentation des oxydations est indépendante des phénomènes essentiels de la fécondation*, et se trouve déterminée par une modification quelconque de la surface, on peut se demander si, au point de vue de la physiologie des premiers stades du développement, l'œuf d'Oursin n'est pas un matériel extrêmement spécial. Rappelons encore, à cette occasion, la complexité d'organisation physico-chimique de ses enveloppes, comportant deux couches de colloïdes de signe contraire d'après les recherches de Gray et de Lillie, complexité que nous avons déjà signalée en exposant les recherches de Herlant sur la perméabilité de cet œuf. On pourrait conclure, semble-t-il, que l'œuf d'Oursin réalise un type de cellule dont la perméabilité varie très fortement sous l'influence de faibles actions physico-chimiques, dont la surface en un mot est particulièrement sensible aux actions extérieures.

Mais ce cas spécial de l'œuf d'Oursin nous met en présence du problème des oxydations cellulaires.

Les conditions qui régissent ces oxydations sont étudiées par Osterhout et ses élèves ; leurs recherches sur les effets de la concentration moléculaire, des antagonismes des sels, du pH extérieur, des corps cytolysants et anesthésiques, ont un grand intérêt pour la physiologie du développement et permettront bientôt de reprendre, avec des idées nouvelles, nombre d'expériences effectuées sur des œufs. Citons les travaux de Moldenhauer et Brooks, Irwin, Gustafson (1919 et 1920), etc.

Chez l'œuf de *Sabellaria*, on constate facilement que la pression osmotique et surtout la réaction du milieu ont une influence marquée sur le taux de l'absorption d'oxygène ; les expériences suivantes ont été faites à température constante ; la concentration de l'eau de mer était modifiée par dilution ou addition de NaCl ; son pH était modifié par l'addition de HCl ou NaOH (avec élimination des précipités formés d'hydroxyde).

Concentration active	Absorption de O^2 en milligrammes pour 100 grammes d'œufs en 100 minutes
0,895	14,0
1,096	16,0
1,438	14,6
*p*H	
5,8	2,5
6,85	10,4
8,2	14,8
9,4	15,5
10,2	10,7
11,3	0,0 (cytolyse)

L'optimum est ici pour un pH supérieur à celui de l'eau de mer normale (Fauré-Fremet 1924).

Meyerhof (1918) isole des cellules de levure un « corps respiratoire » soluble dans l'eau, précipitable par l'alcool, et agissant par un groupement sulfhydrile, et Hopkins (1921) isole de divers tissus un composé analogue, la glutathion ; c'est un dipeptide dans lequel on peut caractériser l'acide glutamique et la cystine. On sait que, en réduisant la cystine, on coupe la molécule au niveau du groupement -S-S- et l'on obtient deux molécules de cysteine contenant le groupe -SH ; le glutathion peut fonctionner suivant le schéma de Thunberg, comme « donateur » d'hydrogène (forme oxydée) ou comme « accepteur » d'hydrogène (forme réduite). Ce dipeptide est capable dans le premier cas de céder son

hydrogène, soit à l'oxygène moléculaire, soit à un accepteur tel que le bleu de méthylène qui est réduit; mais ce processus est réversible et le dipeptide peut être réduit à son tour.

Schaerer (1921) applique la réaction au nitroprussiate de soude, employée par Hopkins, à l'œuf d'Oursin ; cette réaction est négative dans les œufs non mûrs qui contiennent le glutathion sous la forme oxydée ; elle devient irrégulièrement positive dans les œufs mûrs, et positive dans les œufs fécondés chez lesquels le glutathion existe sous la forme réduite ou active.

Meyerhof montre que l'œuf d'Oursin peut se colorer par le blanc de rongalit qui est le leuco-bleu de méthylène ; il peut donc oxyder celui-ci. Ce sont là des processus réversibles.

L'œuf de *Sabellaria*, en milieu confiné, réduit le bleu de méthylène, mais en présence d'oxygène libre, l'œuf et la solution se recolorent aussitôt.

Schaerer suppose que le fer peut servir de catalyseur pour la fixation d'oxygène sur certaines substances, et rappelle que, d'après Thunberg, la lécithine s'oxyde beaucoup plus vite quand on l'émulsionne dans l'eau avec des traces de fer. Les corps cytolysants pourraient changer à la surface de l'œuf non seulement la répartition des lipoïdes, mais encore leurs combinaisons d'adsorption avec le fer. Warburg pense que HCN et les cyanures peuvent faire passer le fer sous une forme inapte au transport de l'oxygène, etc. (1).

Signalons le fait que le glutathion étudié par Hopkins, Hopkins et Dixon (1922), Dixon et Tunnicliffe (1923) est assez analogue au « philothion » considéré autrefois par de Rey-Pailhade comme l'élément essentiel des oxydations cellulaires.

La présence de ferments oxydants, ou oxydases, a été démontrée par Herwerden dans l'œuf d'Oursin non fécondé ; ce fait n'est pas général. La réaction de Röhmann et Spitzer utilisée par Herwerden comme celle de la benzidine sont toujours négatives avec l'œuf de *Sabellaria* par exemple, et Marcel Prenant (1921) montre que suivant le groupe zoologique étudié, la détection microchimique des ferments oxydants dans l'œuf peut donner un résultat positif ou négatif.

En ce qui concerne les œufs à segmentation totale, nous citerons encore les recherches de Buglia (1908) sur la respiration de l'œuf d'Aplysie ; celles de Fauré-Fremiet et H. Garrault sur la composition des réserves de l'œuf de Patelle, etc.

---

(1) Drew (1920) considère que la réduction du bleu de méthylène par les tissus vivants pourrait être due à la formation d'hydrogène naissant au cours des oxydations intracellulaires. La dissociation de l'eau a été envisagée à ce point de vue ; voir Batelli et Stern (1921).

7. **Œuf de Poule.** — Une première série de recherches sur la composition chimique de l'œuf de Poule comprend les travaux de Vauquelin, Bostock, Chevreul, John, Dumas et Cahours, Lecann, Gobley, Martin Saint-Ange et Baudrimont, Schaerer, Valencienne et Fremy.

Depuis les travaux de Liebermann (1888), on admet la composition suivante :

Jaune d'œuf	Pourcentage
Eau	51 à 52
Résidu fixe	48 à 49
Vitelline et albumine	15 à 16
Graisses neutres	21 à 22
Lécithines	8 à 10
Cérébrine	0,3
Cholestérine	0,44
Sels minéraux	1,33 à 3,0
Glucose	0,37
Glycogène	0

Il existe en plus la lutéine, qui est un carbure.

Blanc d'œuf	Pourcentage
Eau	86 à 87
Résidu fixe	13 à 14
Albumine	12 à 13
Graisses	Traces
Sels minéraux	0,66

Hoppe Seyler, en épuisant le jaune d'œuf par l'éther et reprenant le résidu par NaCl à 10 %, isole la « vitelline » qui renferme encore 25 % de lécithine que l'on sépare à l'alcool bouillant (1).

Bunge (1885) épuise longuement le jaune par l'éther et dissout le résidu insoluble dans HCl à 1 % ; il obtient un liquide opalescent filtrable. Après addition de HCl à 2,5 % et de muqueuse d'estomac de Porc, et abandon à l'étuve à 37°, le liquide se trouble fortement, et un précipité jaunâtre, contenant la totalité du fer, se sépare. Le traitement ultérieur de ce précipité permet de le purifier ; Bunge le lave avec HCl au millième et l'eau distillée ; il l'épuise ensuite à chaud par l'alcool et l'éther, puis le dissout dans l'ammoniaque et le précipite, après filtration, par l'alcool. Tout le fer reste dans le précipité, tandis que des albuminoïdes restent en solution.

Après un nouveau lavage à l'alcool, une macération dans l'alcool chlorhydrique, un épuisement à l'alcool bouillant et un lavage à

(1) Le principe de cette méthode est dû à Denis (1859, *Etudes sur les substances albuminoïdes, Paris).*

l'éther suivi de dessiccation, on obtient une masse brune qui est l'hématogène de Bunge ; 2258 grammes de jaune donnent seulement 34 grammes d'hématogène par ce procédé.

L'analyse donne les chiffres suivants :

C = 42,11 %	P = 5,19 %
H = 6,08 %	S = 0,55 %
N = 14,73 %	Fe = 0,29 %

L'hématogène est une paranucléine (Kossel) ou une pseudonucléine (Hammarsten) ne donnant pas de base nucléinique par hydrolyse.

Le fer est contenu à l'état de combinaison organique.

Hugounenq et Morel (1904 et 1906) préparent la vitelline par la méthode de Bunge et, en agitant fréquemment, la font digérer à 37° dans le mélange :

Vitelline	100
Eau	2.000
Pepsine extractive	8
SO^4H^2	6

Tous les 8 jours, le précipité formé est séparé par décantation, lavé, séché à 80°, broyé, et épuisé par les solvants des graisses. Après deux mois, le résidu inattaquable constitue l'hématogène. C'est un produit abiurétique, donnant une réaction de Millon positive. Il contient C ; H ; N ; O ; P ; S ; Fe ; Ca ; Mg. Il ne contient pas Cl ; Br ; Fl ; I ; As ; Mn ; Cu.

L'attaque prolongée 24 heures à chaud par SO^4H^2 ou HCl ne donne ni bases xanthiques, ni hydrates de carbones ; c'est donc bien une paranucléine ; il reste un pigment ferrugineux insoluble, l'hématovine, voisine de l'hématine.

Hugounenq a poursuivi l'étude des acides aminés de l'hématogène et trouve :

	Pourcentage
Arginine	1,0
Histidine	2,1
Lysine	1,2
Tyrosine	2,0
Leucine	6,8
Acide amino-valérique	1,5
Proline, Alanine, Sérine, Phénylalanine	traces
Acide glutamique	1,0
Acide aspartique	0,7
Ammoniaque	1,7

Le glycocolle est absent comme dans la caséine dont l'hématogène se rapproche beaucoup comme composition.

En résumé, la *vitelline* est constituée par une paranucléoprotéide et une albumine.

La digestion peptique sépare la paranucléine sous forme de résidu insoluble dont l'hydrolyse donne :

1° les dérivés d'une albumine appartenant à la catégorie des *histones* riches en acides diaminés ;

2° l'hématovine.

Nous avons longuement insisté sur la composition de la vitelline de l'œuf de Poule, la seule qui ait donné lieu à des recherches aussi approfondies, parce que les documents relatifs à la composition des réserves azotées des autres œufs indiquent comme vraisemblable une composition analogue ou tout au moins voisine.

Les graisses de l'œuf de Poule comprennent des éthers palmitique et oléique de la glycérine ; les lécithines qui sont en forte proportion ont été l'objet d'un très grand nombre de recherches dont l'étude nous entraînerait dans le domaine de la chimie pure (1).

L'albumine du blanc d'œuf a été étudiée par Schutzenberger, Abderhalden, etc., qui ont séparé des acides monoaminés. Hugounenq et Morel, Galimard, ont isolé, après hydrolyse barytique ou sulfurique des acides diaminés. Sörensen a fait l'étude approfondie de ces propriétés physico-chimiques (2). Hugounenq et Morel ont signalé la présence de glucosamines.

L'œuf de Poule subit une perte de poids au cours du développement embryonnaire, c'est-à-dire pendant l'incubation ; ce phénomène a été étudié par Réaumur, Prévot et Dumas, Féré, Aggazzotti, Tangl et Mituch.

D'après Tangl, un œuf du poids moyen de 54,2 grammes contient avant l'incubation :

Eau.....	36,8	
Substances sèches....	12,14	Total = 86,85 Cal.
Graisse.....	5,68	
N.....	0,929	

Il perd pendant le développement :

Eau.....	10,92	
Substances sèches....	2,35	Total = 22,94 Cal.
Graisses.....	2,11	

Pendant une première période du développement qui s'étend

(1) Voir la revue publiée par Fourneau, *Bull. Soc. de Chimie Biol.*, t. II, p. 67 (1919).

(2) Voir *Soc. chimique de France* (1921).

jusqu'à la formation de l'allantoïde, les besoins respiratoires de l'œuf de Poule sont extrêmement faibles, comme ceux de l'œuf de Grenouille ; peut-être même existe-t-il des processus anaérobies ; et Stepanek (1904) a trouvé dans l'œuf un ferment glycolytique capable d'agir aussi bien anaérobiquement qu'aérobiquement. D'ailleurs, Dareste et Marshall ont montré que pendant les premiers jours, le développement peut commencer malgré le vernissage de la coquille, ou encore d'après Bakounine (1895) dans une atmosphère d'acide carbonique ou d'azote.

Cependant Hasselbach (1903) signale pendant les 5 ou 6 premières heures du développement une élimination d'oxygène et aussi d'une petite quantité d'azote ; ce dernier fait n'est pas retrouvé par Tangl.

D'après les mesures de Bohr et Hasselbach (1903) l'intensité de la respiration augmente peu à peu ; le quotient respiratoire est égal à 0,67 vers le 5e jour, ce qui indique une combustion de matières grasses.

Lussana (1905) trouve un quotient inférieur à 0,70 pendant 18 jours d'incubation, et constate ensuite un accroissement rapide de cette valeur. Herlitzka (1907) explique ces chiffres par l'absence de ferments glycolytiques.

D'après les chiffres de Hasselbach, Tangl (1903) calcule que, pendant la durée de l'incubation, un œuf moyen élimine 5,939 grammes de CO^2 soit 1,620 grammes de carbone, correspondant à 2,260 grammes de graisses. Le chiffre trouvé d'après les dosages par la méthode de Liebermann est 2,11 ; l'accord est excellent entre ces deux chiffres et l'on peut conclure que la perte de poids est due en grande partie à la combustion des graisses. Celle-ci correspond toujours, pour un œuf moyen, à une diminution de l'énergie interne du système, égale à 22,94 Calories soit en chiffre rond 23 Cal. ou encore 26,4 % du potentiel chimique initial. Tangl désigne cette diminution du potentiel énergétique sous le nom peut-être impropre de *travail absolu de développement.* Il reste à ce moment dans l'œuf 63,8 Cal. qui se répartissent entre les substances formées U′ c'est-à-dire le Poulet, et les restes du vitellus nutritif U_R ; Tangl trouve par combustion à la bombe calorimétrique les valeurs suivantes pour U′ et U_R :

Poulet (U′)	37,5 Cal.
Vitellus restant (U_R)	26,4 Cal.

Nous pouvons calculer avec Terroine et Wurmser le rendement énergétique brut du développement embryonnaire du Poulet

$$\frac{U'}{(U_1 - U_2) - U_R}$$ soit d'après les chiffres de Tangl $$\frac{37,5}{86,85 - 26,4} = 0,62.$$

Le rendement brut est donc de 62 %, chiffre très voisin de celui trouvé pour le développement de l'*Aspergillus* (58 %).

D'après Bohr et Hasselbach, le nombre des Calories perdues pendant le développement, soit 22,94, correspond exactement à la chaleur de formation de l'acide carbonique éliminé, et se retrouve tout entière si le développement embryonnaire s'effectue dans un calorimètre. Cela signifie que, dans le bilan

$$(U_1 - U_2) = U' + U_R + \text{chaleur dégagée} + \text{travail}$$

le terme travail, correspondant au travail d'organisation, est très petit et de l'ordre de grandeur des erreurs de mesure ; c'est précisément le cas déjà constaté par Terroine et Wurmser pendant le développement de l'*Aspergillus*.

Tangl distingue, à côté du travail absolu de développement ou perte d'énergie subie par le système, le « travail relatif » ou quantité d'énergie transformée pendant la constitution de 1 gramme d'embryon soit 805 calories ; et le « travail spécifique » ou quantité d'énergie transformée pendant la formation de 1 gramme de substances embryonnaires *sèches*, soit 3.600 cal. Ces deux valeurs représentent plus exactement une « chaleur de formation » qu'un travail, et nous dirons que la formation de 1 gramme de substances embryonnaires sèches représente 3.600 calories. Mais, d'après Tangl, ce chiffre n'est qu'une valeur moyenne, et le « travail spécifique » varie au cours du développement.

Le Breton et Schaeffer (1923) calculant, d'après les chiffres de Bohr et Hasselbrach, la production de chaleur par gramme d'embryon et par heure, constatent que les valeurs obtenues varient, elles aussi, au cours du développement ; nous avons réuni ces données dans le tableau suivant ·

Age en jours	Calories dégagées par gramme et par heure (Bohr et Hasselbach)	Travail spécifique (Tangl)
4 jours	46,6	
5 jours	18,3	
6 jours	10,05	
7 jours	9,6	
8 jours	4,2	
9 jours	4,8	
10 jours	4,05	28,400
11 jours	3,8	14,53
12 jours		14,17
		11,38
18 jours		3,259
21 jours		3,113
		3,309
		2,609

La comparaison de ces chiffres montre que l'activité est relativement plus grande aux jeunes stades, et que la formation de l'unité de masse de tissu organisé est d'autant moins onéreuse pour le système, que la transformation de celui-ci est plus avancée.

La substance formée, c'est-à-dire l'embryon, subit une croissance propre aux dépens des substances vitellines, exactement comme le mycélium dans le milieu de culture.

La courbe de croissance embryonnaire du Poulet a été déterminée par Hasselbach, Lamson et Edmond, Card et Kirkpatrick, Le Breton et Schaeffer ; nous reviendrons plus loin sur ces courbes et leur signification générale ; signalons seulement que les enveloppes embryonnaires ont, elles aussi, un accroissement propre ; elles sont très riches en eau et l'allantoïde contient, d'après Hasselbach (1900), 98 % d'eau au 8e jour et 92 % au 18e jour.

Il résulte de ce fait que, dans le système très complexe qu'est devenu l'œuf, l'embryon proprement dit n'est qu'une partie des substances formées et que, par conséquent, une fraction de l'énergie transformée est utilisée par la formation des annexes embryonnaires qui servent d'intermédiaires entre les substances transformables et les substances déjà formées. Le blanc d'œuf se trouve peu à peu repoussé au pôle aigu où il est enserré par l'allantoïde. Les conditions sont donc plus complexes ici que dans le cas du mycélium d'*Aspergillus* où aucun intermédiaire n'existe entre le milieu nutritif et les tissus en voie de croissance.

Les transformations chimiques accompagnant la croissance de la masse organisée aux dépens des réserves nutritives ont été étudiées d'une manière fragmentaire.

Schaeffer et Le Breton (1923) dressent la courbe de variation de l'azote total de l'embryon ; elle est parallèle à celle du poids embryonnaire.

Bynwaters (1913) constate la disparition du sucre 6 jours après l'incubation (1).

Tangl a montré que les substances grasses totales diminuent ; elles diminuent fortement dans le vitellus et augmentent dans l'embryon, tout en changeant de caractère (Enriquez et Hansen) ; des acides gras libres apparaissent dans le vitellus (Eaves).

Les combinaisons phosphorées organiques sont transformées en phosphates (Plimmer et Scott) et la coquille de l'œuf diminue de poids (Tangl et Mituch).

L'apparition de ferments a été étudiée par Lafayette Mendel, Riddle, Wohlgemuth.

---

(1) Les ferments de l'œuf de Poule ont été étudiés par Wohlgemuth (1904 et 1905), Herlitzka (1907), etc.

La formation de bases puriques, particulièrement de guanine, et de pentoses a été mise en évidence par Kossel, Lafayette Mendel et Leavenworth ; Fridericia (1912) a entrepris de suivre la synthèse des nucléoprotéides, et cette étude a été reprise avec succès par Le Breton et Schaeffer (1923). On sait quel est le schéma de l'acide nucléique de la levure de bière, par exemple, d'après Levene ; à chacun des quatre groupes P-O- d'une chaîne pyrophosphorique se trouve lié un *nucléotide* c'est-à-dire un pentose uni lui-même à une base xanthique ou pyrimidique : guanine, adénine, uracyle et cytosine.

Les méthodes de dosage des aminopurines ont été soigneusement revues et remises au point par Le Breton et Schaeffer ; elles permettent d'effectuer correctement la détermination quantitative de l'azote de ces bases (1), détermination qui peut servir de mesure de l'acide nucléique. Les dosages sont faits au cours du développement sur l'embryon de Poulet dépouillé de ses enveloppes, et les chiffres sont rapportés à ceux de l'azote total.

La synthèse des aminopurines est d'abord assez lente ; elle s'accroît nettement à partir du 10e jour, mais beaucoup moins que la synthèse de l'azote total ; bien que régulière dans son ensemble, cette courbe présente deux accidents ; un premier au 17e jour et un second au 20e jour. Si l'on calcule l'accroissement par rapport à 100 parties d'azote purique, on obtient une courbe en cloche.

Schaeffer et Le Breton obtiennent des courbes beaucoup moins régulières d'après les chiffres de Fridericia qui avait effectué les dosages d'aminopurine sur l'ensemble de l'embryon et de ses enveloppes ; or, celles-ci présentent à certains stades des phénomènes de régression nettement prononcés.

Tangl (1903) a déterminé chez le Poulet près d'éclore la chaleur de combustion (énergie spécifique) de différents organes, et la quantité d'énergie représentée par chacun d'eux par rapport à l'énergie totale de l'embryon exprimée en Calories.

	Calories (Pourcentage)	Chaleur de combustion (tissus séchés) (Calories)
	—	—
Muscles	28,3	6,687
Système nerveux central	3,1	6,007
Organes thoraciques et abdominaux	17,6	5,950
Peau et annexes	21,4	5,537
Os	22,4	4,907
Reste	7,2	5,647
Moyenne		5,771

(1) A condition, cependant, qu'il n'y ait pas d'acide urique dans les tissus étudiés, ce qui limite malheureusement l'usage de cette technique.

Le poids sec de l'embryon est de 5,48 grammes correspondant à 31,626 Cal.

Le poids sec des enveloppes est de 0,281 gramme correspondant à 1,22 Cal.

8. **Œuf de Truite.** — La structure cytologique de l'œuf de Truite a été décrite par HENNEGUY (1889). L'oocyte mûr est une masse assez volumineuse mesurant de 4 à 6 mm. de diamètre, entourée par une membrane vitelline résistante. Le cytoplasma comporte une substance fondamentale fluide contenant de fines granulations mitochondriales, et une masse considérable d'inclusions deutoplasmiques ; les unes sont constituées par des gouttes d'huile, les autres par une vitelline fluide et transparente. Au moment où les œufs tombent dans la cavité générale, HENNEGUY a constaté que cette structure se modifie brusquement : toutes les gouttes de vitelline confluent en une seule masse d'aspect homogène qu'entoure une mince couche protoplasmique ; au niveau de la vésicule germinative, devenue périphérique, cette couche est un peu plus épaisse, et bourrée de gouttes d'huile.

La composition chimique de l'œuf de Truite a été étudiée par TANGL et FARKAS (1904), FAURÉ-FRÉMIET et H. GARRAULT (1922) ; on peut rapprocher les chiffres obtenus de ceux de GREENE pour l'œuf de Saumon.

100 grammes d'œufs mûrs au moment de la ponte contiennent :

	FAURÉ-FRÉMIET et GARRAULT (Pourcentage)	TANGL et FARKAS (Pourcentage)	GREENE (Pourcentage)
Eau	58,5	66,12	57,68 à 58,19
Subst. protéiques (N × 6,25)	29,81	25,43	26,56 à 27,01
Corps gras (ac. gras × 1,046)	9,16	7,25	13,6 à 12,75
Glycogène	0,34	»	» »
Cendres	1,25	»	0,61 à 0,68
TOTAUX	99,06	98,80	

La séparation de la vitelline est possible à partir des œufs frais que l'on broie avec quelques cristaux de NaCl ; la purée obtenue est filtrée sur toile avec un entonnoir de BÜCHNER, et le résidu (membrane vitelline et restes protoplasmiques) est lavé avec le minimum d'eau salée à 8 %. On obtient un liquide jaune, filant, transparent, que l'on peut déjà débarrasser d'une partie des matières grasses en l'épuisant à l'éther ; la précipitation de la vitelline se fait très facilement en versant le liquide dans l'alcool (1), ou mieux en diluant ce liquide dans une très grande quantité d'eau distillée ; le précipité obtenu de cette manière peut être redissous et reprécipité plusieurs fois, puis lavé à

(1) On obtient un produit brut qui ne se redissout plus.

l'alcool, épuisé à l'éther, et séché. On peut extraire ainsi de l'œuf 24,8 % de vitelline. La vitelline sèche se présente sous l'aspect d'une poudre blanche ; elle ne donne pas de produits réducteurs par hydrolyse.

Valenciennes et Frémy (1857) avaient déjà réalisé la séparation de ce corps, dénommé « ichtuline », par une technique analogue ; l'analyse donne les chiffres suivants pour l'azote et le phosphore :

	Frémy et Valenciennes	Fauré-Fremiet et Garrault
N	15,2	14,28
P	0,6	0,57
Cendres	»	2,17

L'ichtuline ou vitelline du Cabillaud étudiée par Levene contient 14,03 % d'azote.

La vitelline de Truite est soluble dans l'eau, soit en milieu nettement alcalin, soit en présence de sels et mieux en présence de sels de métaux bivalents : une solution à 3 % est stable en présence de NaCl $\frac{N}{5}$ (1,16 %) ou de $CaCl^2$ $\frac{N}{100}$ (0,11 %). Or, l'œuf de Truite renferme 0,27 % de calcium, et la vitelline précipitée à l'alcool en contient encore 0,137 %.

La vitelline ou ichtuline de Truite semble bien être, comme la vitelline de l'œuf de Poule, une paranucléoprotéide assez voisine de la caséine.

Les matières grasses de l'œuf de Truite existent par rapport au poids sec de l'œuf dans la proportion de 22,4 à 24 %, et se répartissent de la manière suivante :

Glycérides	10,00	
Phosphatides	8,25	(minimum)
Cholestérine	1,37	
Insaponifiable X	0,67	

Les glycérides sont formés avec les acides oléique et myristique.

L'énergétique du développement de l'œuf de Truite a été étudiée par Tangl et Farkas (1904). Ces auteurs n'ont pas trouvé de glycogène ; on remarquera que, sauf dans le cas toujours exceptionnel de l'œuf d'*Ascaris*, le glycogène est peu abondant dans tous les œufs ; les méthodes qui permettent de l'isoler par précipitation (Brücke, Pflüger) ne conviennent pas à cause de la masse considérable des substances protéiques, qui peuvent retenir les faibles quantités existantes de cet hydrate de carbone. La méthode de Bierry et Gruzewska donne des résultats infiniment meilleurs (1).

(1) La présence des vitellines demeure cependant une cause de difficulté ; il en est de même à l'égard du dosage des acides gras par la méthode de Kumagawa-Suto. Voir Fauré-Fremiet et Garrault (1922).

La chaleur de combustion de l'œuf est égale à 6453 cal. par gramme de substances sèches.

L'étude des échanges respiratoires a été faite en déterminant la quantité de CO^2 émis par les œufs ; ceux-ci étaient étalés sur des plateaux dans une cloche fonctionnant comme une chambre humide, et traversée par un courant d'air ; 96,48 grammes d'œufs ont donné :

	Milligr. de CO^2
Premier jour	7,8
Deuxième jour	13,9
Troisième jour	24,4
Quatrième jour	24,8
Cinquième jour	30,2
Sixième jour	47,7
Septième jour	50,6

La perte de carbone correspondante est seulement de 0,054 en 8 jours.

Après 42 jours d'incubation, la perte de poids atteint 5,5 %.

Un œuf moyen pèse 88,2 milligrammes ; la perte de poids totale est de 4,9 milligrammes et se décompose ainsi :

Eau	4,11
Subst. sèches	0,792
Carbone (d'après CO^2 émis)	0,367

La perte de poids sec est extrêmement faible, soit 0,89 % ; la perte d'énergie chimique est égale à 6,66 cal., soit 3,5 % de l'énergie initiale.

Il faudrait déterminer le poids du chorion, et rapporter la perte de poids sec à la masse de l'œuf proprement dit pour avoir des mesures utilisables.

Le détail des variations mesurées par TANGL et FARKAS entre la ponte et la fin de l'incubation se décompose ainsi pour un ensemble de 518 œufs :

	Avant l'incubation	A la fin de l'incubation	Variation	Pourcentage
Poids	45,70	43,16	—2,54	
Eau	30,21	28,08	—2,13	— 7
Substances sèches	15,49	15,08	—0,41	»
Graisses (méthode de Liebermann)	3,31	3,44	+0,13	+ 3,9
Extrait éthéré	1,46	1,84	+0,38	+26,0
Azote	1,86	1,85	—0,01	»
Carbone	8,67	8,48	—0,19	— 2,0
Calories	99,85	96,39	—3,46	»

D'après ces chiffres, TANGL et FARKAS concluent non seulement

que les graisses ne sont pas utilisées pendant le développement de l'embryon de Truite, mais encore que des graisses se forment à partir des protéides ou des glucoprotéides, dont Walter signale la présence dans l'œuf de Carpe (1). Ils rappellent les recherches de Burdach qui admet la formation de graisse dans l'œuf de *Limnaea stagnalis* : mais les chiffres de Burdach seraient à revoir d'après de nouveaux dosages. Nous conclurons des résultats obtenus sur l'œuf de Truite que, étant donné la faible valeur de la perte de poids enregistrée par Tangl et Farkas, la présence du glycogène, même en petite quantité, ne doit pas être négligée ; le poids de cet hydrate de carbone correspond en effet au tiers de la perte des substances sèches. D'autre part, la connaissance du quotient respiratoire serait utile pour savoir ce qui est brûlé dans l'œuf au cours des processus d'oxydation.

Enfin, en ce qui concerne le problème de la non-utilisation des graisses, nous retrouvons ici les mêmes difficultés qu'avec l'œuf de Grenouille ; les dosages sont trop peu nombreux en fin de développement et les différences observées sont du même ordre que les erreurs possibles, et de nouvelles déterminations seraient nécessaires ; on a vu dans le cas de l'œuf de Poule que les graisses du vitellus sont en partie brûlées, tandis que les tissus embryonnaires s'enrichissent en graisses dont la constitution est d'ailleurs différente, comme si elles avaient été reconstituées par synthèse. Des transformations analogues se produisent peut-être entre les réserves de l'œuf de Truite et l'embryon proprement dit ; les chiffres de Farkas accusent d'ailleurs une différence beaucoup plus grande entre l'extrait éthéré et l'extrait après saponification totale indiquant peut-être une différence qualitative.

Quelle que soit d'ailleurs la source de l'énergie chimique transformée pendant le développement embryonnaire, celle-ci permet, comme chez la Grenouille ou la Poule, la transformation des réserves azotées et phosphorées constituant les vitellines, en substance organisée. Mais, chez la Truite comme chez la Poule, le développement embryonnaire représente simultanément un travail de croissance et un travail d'organisation.

Glaser (1912) a étudié au point de vue énergétique le développement du *Fundulus* ; la chaleur de formation de 1 gramme de substances embryonnaires sèches est de 3 calories environ.

La constitution chimique de l'œuf a été étudiée chez quelques autres Poissons. Citons en particulier les travaux de Hammarsten (1905) et de Wetzel (1907).

---

(1) Gortner (1914) et Mac Clendon (1915) ont constaté aussi une légère augmentation des matières grasses pendant le développement embryonnaire de Poissons et de Batraciens.

Fauré-Fremiet et H. Garrault (1922) ont trouvé pour l'œuf de Carpe :

Eau	66,3
Substances protéiques (N × 6,25)	25,7
Corps gras	6,2
Cholestérines	0,45
Hydrates de carbone	0,00
Cendres	2,00
Total	100,65

Les globules vitellins sont constitués dans cet œuf par une « ichtidine » (Fremy et Valenciennes) qui n'est pas une espèce chimique, mais un complexe parfaitement homogène, et formant des sortes de cristalloïdes, d'une vitelline analogue à celle de Truite (71 %) et d'une lécithine (29 %). Il existe d'autres globules vitellins uniquement constitués par la vitelline.

Les corps gras comprennent :

Phosphatides (P. lipoïdique × 25,75)	12,33
Glycérides	6,08
Cholestérine	1,34
Insaponifiable X	0,8

Les glycérides renferment ici encore de l'acide myristique et des acides non saturés dont l'étude n'a pu être faite.

9. **Œuf de Bombix du Mûrier.** — Le *Bombyx mori* peut se reproduire suivant les modes univoltin ou bivoltin selon qu'il existe une ou deux générations par an.

Tichomiroff (1885), Farkas (1903), Vaney et Conte (1911) ont étudié au point de vue chimique et énergétique le développement de l'œuf chez les races univoltines.

On sait que, peu de temps après la ponte, l'œuf fécondé change de couleur, et de blanc jaunâtre devient violacé ; cette transformation correspond au développement du blastoderme ; ensuite l'œuf traverse une longue période de repos et de vie ralentie, à laquelle succède au printemps suivant une période d'édification embryonnaire active se terminant par l'éclosion de la jeune chenille. Voici les durées et les dénominations de ces diverses périodes d'après :

	Vaney et Conte	Luciani et Piutti
Première période (5 jours)	Constitution de la bandelette germinative, du repli amniotique et des cellules vitellines	Période d'été (7 jours)

	Vaney et Conte	Luciani et Piutti
Deuxième période (9 mois).....	Vie ralentie.....	Période d'hiver
Troisième période (10 à 15 jours).	Édification embryonnaire; multiplication des cellules embryonnaires aux dépens des cellules vitellines qui se résorbent; éclosion.....	Période d'incubation

L'œuf est protégé par un chorion épais constitué par une substance sulfurée, et non pas de nature chitineuse, la « chorionine » de Tichomiroff.

Cette substance est soluble, surtout à chaud, dans KOH et NaOH concentrés.

D'après Farkas, la chorionine forme 10,46 à 10,6 % du poids de l'œuf, ou d'après Tichomiroff, 8,87 % du poids frais, et 25,97 % du poids sec de l'œuf. Son analyse donne d'après :

	Tichomiroff (Pourcentage)	Farkas (Pourcentage)
Azote.....	16,93	15,64
Carbone.....	»	49,63
Soufre.....	3,67	»
Cendres.....	0,7	»

L'œuf total pendant la période d'hiver, contient, d'après Farkas :

Eau.....	64,56
Substances sèches.....	35,44
Substances organiques.....	34,10
Graisses.....	7,34
Azote.....	3,48
Cendres.....	1,33

	Calories
La chaleur de combustion de 1 gramme...=	6,105
Celle de 1 gramme d'extrait éthéré.....=	9,343

Tichomiroff avait trouvé en plus :

Glycogène..... 1,98 soit 5,79 % du poids sec

et parmi les corps gras :

Graisses.....	8,08	
Lécithines.....	1,04	
Cholestérine.....	0,40	soit un total de 9,42 %

chiffre supérieur à celui de Farkas.

Les échanges respiratoires ont été étudiés par Luciani et Piutti (1888), en dosant l'acide carbonique émis par les œufs placés dans un vase traversé par un courant d'air lent. L'activité est très faible pendant la période d'hibernation : 1 kilogramme d'œufs produit 0,18 gramme de CO^2 en 24 heures à 18° C, et 0,05 dans le même temps à 0°.

L'activité augmente pendant l'incubation et peut être 259 fois plus forte au moment de l'éclosion qu'à 0° en hiver. Le quotient respiratoire $\frac{CO^2}{O^2}$ serait variable.

Farkas a mesuré l'acide carbonique produit par 100 grammes d'œufs au cours de l'incubation :

Temps	Production journalière	Quantité totale (depuis le début)
Premier jour	0,059	0,059
Deuxième jour	0,101	0,160
Troisième jour	0,172	0,332
Quatrième jour	0,176	0,508
Cinquième jour	0,182	0,690
Sixième jour	0,391	1,081
Septième jour	0,416	1,497
Huitième jour	0,592	2,089
Neuvième jour	0,581	2,670
Dixième jour	0,588	3,258
Onzième jour	0,845	4,103

D'après le même auteur, le poids moyen de l'œuf est de 0,711 milligramme, celui d'une chenille à l'éclosion est de 0,504 milligramme soit 70,8 % du poids de l'œuf. Il reste la chorionine et les résidus, et les constituants chimiques se répartissent entre l'organisme formé et les résidus de la manière suivante :

	Chenille (Pourcentage)	Résidus (Pourcentage)
Eau	71,78	13,98
Substances sèches	28,22	86,02
Substances organiques	26,44	84,16
Graisses	5,32	4,45
Azote	3,04	13,77
Cendres	1,78	1,87
Calories (pour 1 gr. sec)	5.782 calories	5.301 cal.

La majeure partie des transformations de substances albuminoïdes amènerait à la formation de chitine pendant l'édification de l'embryon.

1 gramme de chenilles à l'éclosion a consommé pendant sa formation 0,06 gramme de graisses.

La formation de 1 gramme de substances *sèches* représente une

consommation de 0,212 gramme de graisse, et 3125 calories, ou 24,13 % de l'énergie chimique à l'état initial. Mais la graisse disparue ne représente que les 2/3 de cette énergie, et le tiers restant est imputable au glycogène et aux protéides.

Vaney et Conte (1911) reprennent cette étude à partir de la ponte de l'œuf ; ils n'examinent pas les échanges gazeux mais mesurent la perte de poids. Celle-ci a déjà été étudiée par Duclaux (1869) et Maillot (1885). Cette perte se répartit de la manière suivante :

Première période.....	(5 jours).....	2,67 % du poids initial
Deuxième période.....	(± 9 mois)..	4,96 % du poids initial
Troisième période.....	(10 jours)...	7,84 % du poids initial

La période de vie ralentie est particulièrement intéressante parce que l'activité de l'œuf n'est pas nulle ; l'embryon ne se développe pas, mais le tissu vitellin, qui s'est constitué pendant la segmentation (1re période du développement), possède une activité chimique propre. Vaney et Conte ont dosé le glycogène (1) et les résultats sont curieux.

Epoque	Glycogène (Pourcentage)
Ponte.....	3,08
Fin de la première période.....	1,211
Fin de la deuxième période.....	1,847
Eclosion.....	0,415

Il y a donc une importante consommation de glycogène pendant la segmentation, l'édification de la bandelette germinative et du tissu vitellin ; ensuite, on constate une augmentation légère, mais marquée cependant, du glycogène qui s'accumule dans le tissu vitellin ; les cellules vitellines sont donc capables d'élaborer aux dépens d'autres substances des hydrates de carbone. Rappelons que le placenta des Mammifères se charge de glycogène, et que, dans le développement des Oiseaux, Cl. Bernard a montré la formation de glycogène dans l'aire vasculaire.

Vaney et Conte ont également suivi les variations des graisses (2) ; ils trouvent (en rapportant au poids initial) :

Quatre jours après la ponte.....	7,21 %
Six jours après la ponte.....	6,68 %
Après 9 mois.....	5,348 %
Après 10 mois.....	4,88 %

(1) Ces auteurs n'indiquent malheureusement pas la méthode employée.
(2) Par pesée de l'extrait éthéré ce qui malheureusement n'est qu'approximatif.

Soit une diminution continuelle aussi bien pendant la segmentation que pendant la glycogenèse du tissu vitellin.

Pendant la période d'incubation, ces auteurs constatent au contraire une augmentation.

Incubation :	deuxième jour ...	4,39 %	
—	quatrième jour...	4,51 %	
—	sixième jour	4,14 %	
—	huitième jour ...	4,58 %	période
—	dixième jour.....	5,57 %	d'augmentation

Les résultats obtenus par Vaney et Conte demanderaient à être précisés par des dosages faits avec d'autres méthodes. Dans leur ensemble, ils restent d'accord avec les résultats de Tichomiroff et de Farkas, mais ils présentent un grand intérêt en ce qu'ils apportent des notions nouvelles sur les phénomènes très complexes du développement chez le *Bombyx mori*.

En résumé, le développement embryonnaire, chez le Papillon du Ver à soie, est caractérisé non seulement par des discontinuités très accentuées, mais encore par le jeu physiologique de deux éléments coexistants : les tissus embryonnaires proprement dits et le tissu vitellin. La variation corrélative de l'activité de ces tissus peut être comparée à certains stades de la métamorphose.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

Agazzotti, 1913. I. La perspirazione delle uova di gallina durante lo sviluppo in alta montagna (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXVI, p. 633).

Agazzotti, 1913. II. La reazione dei liquidi del uovo durante lo sviluppo (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXVII, p. 1).

Agazzotti, 1914. Influence de l'air raréfié sur l'ontogenèse. III. Les modifications qui ont lieu dans les gaz de la chambre d'air de l'œuf durant le développement (*Arch. Ital. de Biol.*, t. LXII, p. 367).

Amerling, 1908. Ueber die Widerstandsfähigkeit gegen Sauerstoffmangel und gegen Wärmelachnung während der Ontogenie des Frosches (*Pflüger's Arch. f. die ges. Phys.*, Bd. CXXI, p. 363).

Aubel (E.) et Wurmser (R.), 1924. Sur l'utilisation de l'énergie libérée par les oxydations. (*C. R. Acad. Sciences*, t. CLXXIX, p. 848).

Backmann, 1912. Die Einwirkung der Befruchtung auf den osmotischen Druck der Eier von *Bufo vulgaris* und *Triton cristatus* (*Arch. f. d. ges. Phys.*, Bd. CXLIV, p. 241).

Backmann und Runnström, 1912. Der osmotische Druck während der Embryonal entwicklung von *Rana temporaria* (*Arch. f. ges. Phys.*, Bd. CXLIV, p. 287).

Backmann und Sundberg, 1912. Der osmotische Druck bei *Rana temporaria* während der Entwicklung nach dem Ausschlüpfen der Embryonem (*Arch. f. d. ges. Phys.*, Bd. CXLVI, p. 212).

Bakounine, 1895. Sur l'évolution des fonctions embryonnaires (*Arch. Ital. de Biol.*, vol. XXIII, p. 420).

Bataillon, 1896. Evolution de la fonction respiratoire chez les embryons d'Amphibiens et de Téléostéens (*C. R. Soc. Biol.*).

Bataillon, 1897. Nouvelles recherches sur les mécanismes de l'évolution. Les premiers stades du développement chez les Poissons et les Amphibiens (*Arch. Zool. Exp.*, 3e série., t. V).

Bataillon, 1904. Nouveaux essais de parthénogenèse expérimentale chez les Vertébrés inférieurs (*Rana fusca* et *Petromyzon Planeri*) (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XVIII, p. 1).

Bataillon, 1914. La conductivité électrique chez les œufs d'Anoures vierges, activés ou fécondés (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVIII).

Batelli et Stern, 1921. Le mécanisme d'action des ferments oxydants et réducteurs (*Arch. Int. de Phys.*, t. XVIII, p. 403).

Baudrimont et Martin Saint-Ange, 1847. Recherches sur les phénomènes chimiques de l'évolution embryonnaire des Oiseaux et des Batraciens (*Ann. de Chim. et de Phys.*, t. XXI).

Bialaszewicz, 1908. Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibien Embryonen (*Bull. de l'Acad. des Sc. Cracovie*).

Bialaszewicz, 1912. Ueber das Verhalten des osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltierembryonen (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXXIV, p. 489).

Bialaszewicz, 1912. Untersuchungen über die osmotischen Verhältnisse bei der Entwicklung der Hühnerei und Froschembryonen. Vorläufige Mitteilung (*Bull. de l'Ac. des Sc. de Cracovie*).

Bialaszewicz, 1916. Appareil d'analyse respiratoire pour les animaux inférieurs (*C. R. Soc. Sc. Varsovie*, 9e année, fasc. 9, p. 991).

Bialaszewicz, 1921. L'influence de la pression osmotique sur la vitesse du développement des embryons (*Trav. lab. Phys. Inst. Nencki, Soc. Sc. Varsovie*, n° 7).

Bialaszewicz, 1921. Sur le rôle de la catalase dans la respiration des embryons (*Inst. Nencki. Soc. Sc. Varsovie*, vol. I, n° 8).

Bialaszewicz and Bielowski, 1915. The influence of fertilization on the respiration of eggs (*Trav. Soc. Sc. Varsovie*, n° 32).

Bialaszewicz et Minc, 1921. Sur le métabolisme des principes gras et azotés dans les premiers stades du développement de la Grenouille (*Soc. Varsovie Trav. Lab. Phys. Inst. Nencki*, vol. I, n° 11, p. 1, 23).

Bohr und Hasselbach, 1900. Ueber die Kohlensäure Production des Hühnerembryos (*Skandin. Arch. f. Phys.*, Bd. X, p. 149).

Bohr und Hasselbach, 1900. Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos (*Skandin. Arch. f. Phys.*, Bd. X, p. 353).

Bohr und Hasselbach, 1903. Ueber die Wärmeproduktion und den Stoffwechsel des Embryos (*Skandin. Arch. f. Phys.*, Bd. XIV, p. 398).

Brooks, Moldenhauer, 1919. Comp. Stud. on resp. VIII. The respiration of *Bacillus subtilis* in relation to antagonism (*Journ. Gen. Phys.*, vol. XI, n° 1, p. 5).

Brooks, Moldenhauer, 1920. Comp. Stud. on Resp. X. Toxic and antagonistic effects of magnesium in relation to the respiration of *Bacillus subtilis*. *Journ. Gen. Phys.*, vol. XI, n° 4).

Brooks, Moldenhauer, 1921. XV. The effect of bile salts and of saponin upon respiration (*Journ. Gen. Phys.*, vol. III, n° 4, p. 527).

Brooks, Moldenhauer, 1922. The penetration of cations into living cells (*Journ. Gen. Phys.*, vol. IV, n° III, p. 347).

Buglia, 1908. Sullo scambio gasoso delle uova di *Aplysia* nei vari periodi dello sviluppo (*Arch. di Fis.*, t. V, p. 455).

Bunge, 1885. Ueber die Assimilation des Eisen (*Zeitschr. f. Phys. Chem.*, Bd. IX, p. 49).

Bunge, 1904. Der Kalk und Eisengehalt unserer Nahrung (*Zeitschr. f. Biol.*, Bd. XLV, p. 532).

Burdach, 1853. Die Fettbildung im embryonierten Schneckeei. Inaug. Diss. *De Commutatione substantiarum. Proteineaccarum im adipem* (*Königsberg*).

Bynwaters, 1913. Die Assimilation des im Ei enthaltenen Eiweisses durch den Hühnchenembryo (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. LV, p. 245).

Chambers, 1908. Einfluss der Eigrösse und der Temperatur auf das Wachstum und Grösse des Frosches und dessen Zellen (*Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. LXXII, p. 607).

Davenport, 1897. The role of water in growth (*Proc. Boston Soc. Nat. Hist.*, t. XXVIII).

Dixon and Tunnicliffe, 1923. The oxidation of reduced Glutathione and other Sulphydryl Compounds (*Proc. Roy. Soc.*, vol. XCIV, p. 265).

Drew, 1920. The comparative oxygen avidity of normal and malignant cells measured by their reducing power on methylene blue. (*The British Journ. of exp. pathol.*, vol. I).

Duclaux, 1869. Sur la respiration et l'asphyxie des graines du Ver à soie (*C. R. Ac. Sc.* et *Ann. Ec. Normale Sup.*).

Duclaux, 1871. Etudes physiologiques sur la graine de ver à soie (*Ann. Chimie et Phys.*, 4e série, t. IV).

Enriquez und Hansen, 1903. Ueber den Uebergang des Nahrungsfettes in das Hühnerei (*Skand. Arch. f. Phys.*, vol. XIV).

Farkas, 1903. Zur Kenntniss des Chorionin und des Chorioningehalter der Seidenspinnereiern (*Pflüger's Arch. f. d. Ges. Phys.*, Bd. XCVIII, p. 547).

Farkas, 1903. Beiträge zur Energetik der Ontogenese. III. Ueber den Energieumsatz des Seidenspinners während der Entwicklung und während der Metamorphose (*Arch. f. ges. Physiol.*, Bd. XCVIII).

Fauré-Fremiet, 1912. Un appareil de Golgi dans l'œuf de l'*Ascaris megalocephala*. Réponse à M. A. Perroncito (*Bull. Soc. Zool. de France*, avril).

Fauré-Fremiet, 1912. Variation du nombre des chromosomes dans l'œuf de l'*Ascaris megalocephala bivalens* (*Bull. Soc. Zool. de France*, t. XXXVII, p. 285).

Fauré-Fremiet, 1912. L'action des rayons X sur la segmentation de l'œuf de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLV, p. 172).

Fauré-Fremiet, 1923. La formation de la membrane interne de l'œuf d'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 1183).

Fauré-Fremiet, 1913. Un albuminoïde des spermatozoïdes de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 1407).

Fauré-Fremiet, 1913. Action des rayons ultra-violets sur l'œuf de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Ac. Sc.*, t. XLVII, p. 145).

Fauré-Fremiet, 1913. Le cycle germinatif chez l'*Ascaris megalocephala* (*Arch. Anat. micr.*, t. XV, p. 435).

Fauré-Fremiet, 1913. La cellule intestinale et le liquide cavitaire de l'*Ascaris megalocephala* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 567).

Fauré-Fremiet, 1913. La segmentation de l'œuf d'*Ascaris* au point de vue énergétique (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 90).

Fauré-Fremiet, 1915. Composition et morphologie des lipoïdes ovulaires (*Journ. de Phys. et Path.*, t. XVI, p. 808).

Fauré-Fremiet, 1921. Les constituants chimiques de l'œuf et leur rôle dans le développement embryonnaire chez la Grenouille rousse (*Rana temporaria*) (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. III, p. 476).

Fauré-Fremiet, 1921. Constitution de l'œuf de *Sabellaria alveolata* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 1023).

Fauré-Fremiet, 1921. Discontinuité dans l'évolution morphologique du chondriome de l'œuf de *Sabellaria alveolata* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 986).

Fauré-Fremiet et H. Garrault, 1922. Constitution de l'œuf de Truite (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIV, p. 1375).

Fauré-Fremiet et H. Garrault, 1922. Constitution de l'œuf ovarien de Carpe (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIV, p. 1595).

Fauré-Fremiet et H. Garrault, 1922. Etude des substances grasses et lipoïdes de l'œuf de Truite (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 379).

Fauré-Fremiet et H. Garrault, 1922. Les substances grasses et lipoïdes de l'œuf ovarien de Carpe (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 429).

Fauré-Fremiet et H. Garrault, 1923. Constitution de l'œuf ovarien de *Patella vulgata* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 1183).

Fingerling, Köhler und Reinhardt, 1914. Untersuchungen über den Stoff und Energieumsatz wachsender Schweine (*Die Landwirtschaftliche Versuchsstationen*, Bd. LXXXIV, p. 149).

Flury, 1912. Zur Chemie und Toxicologie der Ascariden (*Arch. f. Exp. Path. u. Pharm.*, Bd. LXVII, p. 275).

Frémy et Valenciennes, 1857. Voyez Valenciennes.

Fridericia, 1912. Untersuchungen über die Harnsäure und die Nucleoproteine Bildung beim Hühnerembryo (*Skand. Arch. f. Phys.*, Bd. XXVI, p. 1, 129).

Galimard, 1904. Sur une albumine extraite des œufs de Grenouille (*C. R. Ac. Sc.* t. CXXXVIII, p. 1354).

Gayda (T.), 1921. Ricerche di calorimetria. I. Il Calorimetro differenziale (*Arch. Fisiol.*, t. XIX, p. 1, 32).

Gayda (T), 1921. Ricerche di calorimetria. II. La produzione di calore nello sviluppo ontogenetico del *Bufo vulgaris* (*Arch. Fisiol.*, t. XIX, p. 211, 242).

Gayda (T.), 1921. V. La produzione di calore nei girini alimentati con tiroide o con timo (*Arch. di Fisiol.*, t. XIX, p. 267).

Gayda (T.), 1922. Contributo allo studio della fisiologia della tiroide della *Rana* (*Arch. Fisiol.*, t. XX, p. 209, 224).

Giacosa, 1883. Studien über die chemische Zusammensetzung des Eies und seiner Hüllen beim Frosch. (*Zeitschr. f. Phys. Chem.*, Bd. VII).

Glaser, 1912. (Energie du développement de *Fundulus heteroclitus*) (*Math. term. Ert.* Budapest. Vol. XXX, p. 928).

Glaser, 1913. On inducing development in the Sea Urchin *Arbacia punctata* together with considerations on the initiatory effect of fertilization (*Science*, t. XXXVIII, p. 446, 450).

Glaser, 1914. The change in volume of *Arbacia* and *Asterias* eggs after fertilization (*Biol. Bull.*, t. XXVI, p. 84, 91).

Glaser, 1914. The water content of the embryonic nervous system (*Science*, t. XXXIX, p. 730, 731).

Godlewski, 1914. Physiologie der Zeugung (*Handbuch der vergleïch. Physiol. von Winterstein*, Bd. III, H. 12, p. 457).

Gortner, 1913. Studies on the Chemistry of Embryonic Growth. I. (*The Journ. of Amer. chem. Soc.*, vol. XXXV, p.632.)

Gortner, 1914. Studies on the Chemistry of Embryonic Growth. II. Comparative analyses of the eggs and of the newly-hatched larvae of *Cryptobranchus*. (*The Journ. Amer. chem. Soc.*, vol. XXXVI, p. 1556.)

Greene, 1921. Chemical developpement of the ovaries of the King Salmon during the spawning migration. (*Journ. Biolog. Chem.*, t. XLVIII, p. 59, 71.)

Greene, 1921. Carbohydrate content of the King Salmon tissues during the spawning migration. (*Journ. Biol. Chem.*, t. XLVIII, p. 429, 436).

Gustafson, 1919. Comp. Stud. on resp. IX. The effects of antagonistic salts on the respiration of *Aspergillus niger* (*Journ. Gén. Physiol.*, vol. XI, n° 1, p. 17).

GUSTAFSON, 1920. IX. The effect of hydrogen ion concentration on the respiration of *Penicillium chrysogenum* (*Journ. Gen. Phys.*, vol. XI, n° 6, p. 617).

HAMMARSTEN, 1905. Chemie des Fischeseies (*Skandinav. Arch. f. Physiol.*, Bd. XVII).

HASSELBACH, 1900. Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos (*Skandin. Arch. f. Phys.*, Bd. X, p. 353, 402).

HENNEGUY, 1888. Recherches sur le développement des Poissons osseux (*Journ. Anat. et Phys. Gén.*, t. XXIV, p. 525).

HERLITZKA, 1897. Sullo sviluppo di embrioni completi da blastomeri isolati (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. IV).

HERLITZKA, 1898. Ricerche sulla differenziazione cellulare nello sviluppo embrionale (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. V, p. 45).

HERLITZKA, 1907. Sur l'ontogenèse des ferments (*Arch. Ital. de Biol.*, t. XLVIII, p. 119).

HERWERDEN (VAN), 1913. Sur les oxydones dans les organes génitaux et dans les larves de *Strongylocentrotus lividus* (*Arch. Int. de Phys.*, vol. XIII, fasc. 4).

HERWERDEN (VAN), 1914. Sur les oxydones des Oursins (*Arch. Int. de Phys.*, vol. XIV, fasc. 2).

HOPKINS, 1921. On an autoxidisable constituent of the cell. (*Biochem. Journ.*, t. XV, p. 286, 305).

HOPKINS, 1923. Les mécanismes de l'oxydation dans l'organisme vivant (*Bull. Soc. de Chimie biol.*, t. V, p. 761.)

HOPKINS and DIXON, 1922. On glutathione. II. A thermostable oxidation-reduction system (*Journ. of Biol. Chem.*, vol. LIV, p. 527, 563).

HUGOUNENQ, 1906. Recherches sur la vitelline (*Journ. de Phys. et Path.*, p. 209).

HUGOUNENQ, 1904. Sur une albumine extraite des œufs de Poissons; chimie comparée des productions sexuelles dans la même espèce (*C. R. Ac. Sc.*, t. CXXXVIII, p. 1062).

HUGOUNENQ et MOREL, 1909. Glucosamine abondante dans le blanc d'œuf (*Bull. Soc. Chimie*, vol. III, série 4, p. 848).

KONOPACKI, 1924. Analyse microchimique de la substance périvitelline dans les œufs de la Grenouille (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 593.

KOSSEL, 1886. Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns (*Zeitschr. f. Phys. Chem.*, Bd. X, p. 248).

LE BRETON et SCHAEFFER, 1923. Variations biochimiques du rapport nucléoplasmique (*Trav. Inst. Phys., Strasbourg*, Masson éditeur).

LIEBERMANN, 1888. Embryochemische Untersuchungen (*Pflüger's Arch. f. die Ges. Phys.*, Bd. XLIII, p. 71).

LOEB und WASTENEYS, 1911. Die Beeinflussung der Entwicklung und der Oxydations Vorgänge im Seeigelei (*Biochem. Zeit.*, vol. XXXVII, p. 410).

LUCIANI et PIUTTI, 1888. Sur les phénomènes respiratoires des œufs du Bombyx du Murier (*Arch. Ital. de Biol.*, vol. IX, p. 319).

LUSSANA, 1905. La respirazione dei tessuti negli animali, negli embrioni, e nei neonati (*Archivio da Fano.*, vol. III, p. 113).

MAC CLENDON, 1915. On the formation of fats from proteins in the eggs of Fish and Amphibians. (*Journ. of Biological Chemistry.*, vol. XXI, p. 269.)

MAILLOT, 1885. *Leçons sur le ver à soie du Murier* (1 vol. in-8, Montpellier).

MARSHALL (F. H.), 1922. *The Physiology of reproduction.* 2e édit., Londres.

MENDEL, 1916. Das Wachstum (*Erg. der Phys.*, Bd. XV, p. 102, 162).

MENDEL and LEAVENWORTH, 1908. Changes in the purine, pentose and cholesterol content of the developping egg (*Amer. Journ. of Phys.*, t. XXI, p. 77).

MENDEL and LEAVENWORTH, 1907-1908. Chemical studies on Growth. III. The occurence of Glycogen in the embryo Pig (*Amer. Journ. Phys.*, t. XX).

MEYERHOF, 1911. Die Atmung der Seeigeleier (*S. lividus*) in reinen Chlornatrium-lösung (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. XXXIII, p. 291).

MEYERHOF, 1911. Untersuchungen über die Wärmetonung der vitalen Oxydations Vorgänge im Eiern (I. II. III. *Biochem. Zeitschr.*, Bd. XXXV, p. 246).

MEYERHOF, 1918. Untersuchungen zur Atmung getöteter Zellen (*Pflüger's Arch. f. Ges. Phys.*, Bd. CLXX, I, p. 367, et II, p. 428).

MOLLIARD, 1922. Recherches calorimétriques sur l'utilisation de l'énergie respiratoire au cours du développement d'une culture de *Sterigmatocystis nigra* (*C. R. Soc. Biol.*, t. XLXXVII, p. 219).

OSBORNE and MENDEL, 1914. The suppression of growth and the capacity to grow (*Journ. of Biol. Chem.*, t. XVIII, p. 95).

OSTERHOUT, 1906. Extreme toxicity of NaCl and its prevention by other salts (*Journ. Biol. Chem.*, vol. I, p. 363. *Science*, p. 34).

OSTERHOUT, 1912. The permeability of protoplasm to ions and the theorie of antagonism (*Science*, n° 5, p. 112, 115).

OSTERHOUT, 1916. The penetration of balanced solutions and the theory of antagonism (*Science*, vol. XLIV, p. 395).

OSTERHOUT, 1916. The decrease of permeability produced by anaesthetics (*Bot. Gaz.*, vol. LXIV, p. 148).

OSTERHOUT, 1919. Comp. Stud. on resp. VII. Respiration and antagonism (*Journ. Gen. Phys.*, vol. XI, n° 1, p. 1).

OSTERHOUT, 1922. Direct and indirect determinations of permeability (*Journ. of Gen. Phys.*, vol. IV, n° 3, p. 275).

PARNAS und KRASINSKA, 1921. Ueber den Stoffwechsel der Amphibienlarven (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. CXI, p. 108).

PLIMMER and SCOTT, 1909. The transformations in the phosphorus compounds in the Hen's egg during Development (*Journ. of Phys.*, vol. XXXVIII).

PLIMMER, 1908. The protein of egg-yolk (*Journ. Chem. Soc.*).

PRENANT (M.), 1921. Sur la localisation cytologique d'une peroxydase et sur sa présence dans les cellules sexuelles (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 808).

PRENANT (M.), 1922. Sur les ferments oxydants nucléaires et cytoplasmiques et sur leur importance physiologique (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 972).

PREYER, 1885. *Specielle Physiologie des Embryo* (Leipzig).

RIDDLE (O.), 1911. On the formation, significance and chemistry of the white and yellow yolk of ova (*Journ. of Morph.*, vol. XXII, p. 455).

SHEARER, 1921. On the oxydation processes of the Echinoderm Egg during fertilization (*Proc. of Roy. Soc.*, B. 651, p. 213).

SHEARER, 1922. On the heat production and oxydation processes of the Echinoderm egg during fertilization and early development (*Roy. Soc. Proc.*, B. 654, p. 410).

SCHAPER, 1902. Beiträge zur Analyse der tierischen Wachstums (*Arch. f. Ent. Mech. der Org.*, Bd. XIV, p. 307).

SCHAPER, 1905. Ueber zellproliferatorische Wachstumszentren und deren Beziehungen zur Regeneration und Geschwustbildung (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XIX, p. 348).

SCHULZ und DITHORN, 1900. (*Zeitschr. für Physiol. Chemie*, Bd. XXIX).

TANGL, 1903. I. Die Entwicklungsarbeiten in Vogelei (Beiträge zur Energetik der Ontogenese) (*Arch. f. d. ges. Phys.*, Bd. XCIII, p. 327).

TANGL, 1903. II. Ueber den Verbrauch an chemischer Energie während der Entwicklung von Bakterienculturen (*Arch. f. Ges. Phys.*, Bd. XCVIII, p. 475).

TANGL, 1908. Untersuchungen über die Beteiligung der Eischale am Stoffwechsel die Enthaltes während der Bebrutung (*Archiv f. die Ges. Phys.*, Bd. CXXI, p. 423, 436).

TANGL und FARKAS, 1904. Beiträge zur Energetik der Ontogenese. IV. Ueber den Stoff und Energieumsatz im bebruteten Forellenei (*Arch. f. d. Ges. Phys.*, Bd. CIV).

TANGL und MITUCH, 1908. V. Weitere Untersuchungen über die Entwicklungs-

arbeit und den Stoffumsatz im bebruteten Hühnerei (*Pflüger's Arch. f. d. Ges. Phys.*, Bd. CXXI, p. 347).

Terroine et Barthelemy, 1921. De l'existence de rapports biométriques entre la Grenouille rousse (*Rana fusca*) et ses œufs à l'époque de la ponte (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 740).

Terroine et Barthelemy, 1921. Recherches biochimiques et biométriques sur la Grenouille rousse (*Rana fusca*) et ses œufs à l'époque de la ponte (*Arch. Int. Phys.*, vol. XVIII, p. 419).

Terroine et Barthelemy, 1921. Composition de l'œuf de Grenouille rousse (*Rana fusca*) à l'époque de la ponte (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 611).

Terroine et Wurmser, 1922. L'énergie de croissance. I. Le développement de l'*Aspergillus niger* (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 519).

Terroine, Bonnet et Joessel, 1924. L'énergie de croissance. II. La germination (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. VI, p. 357).

Tichomiroff, 1885. Chemische Studien über die Entwicklung der Insekteneiern (*Zeitschr. f. Phys. Chemie*, Bd. IX).

Valenciennes et Fremy, 1857. Recherches sur la composition des œufs et des muscles dans la série des animaux (*Ann. Chimie et Phys.*, vol. L, p. 129).

Valenciennes et Fremy, 1854. Recherches sur la composition des œufs dans la série des animaux (*C. R. Ac. Sc.*, t. XXXVIII, p. 471).

Vaney et Maignon, 1905. Variations subies par le glucose, le glycogène, la graisse et les albumines solubles au cours des métamorphoses du Ver à soie. (*C. R. Acad. Sc.*, 1er mai 1905.)

Vaney et Maignon, 1905. Influence de la sexualité sur la nutrition du *Bombyx mori* aux dernières périodes de son évolution. Localisation du glycogène, des graisses et des albumines solubles au cours de la nymphose (*C. R. Acad. Sc.*, 8 mai 1905.)

Vaney et Maignon, 1906. Contribution à l'étude physiologique des métamorphoses du ver à soie (*Rapp. Lab. Etudes de la soie*, vol. XII).

Vaney et Conte, 1911. Recherches sur le développement de l'œuf de Ver à soie univoltin (*Rap. Com. adm. Labor. d'études de la soie de Lyon.*, t. XIV).

Warburg, 1908. Beobachtungen über die Oxydations Prozesse im Seeigelei (*Zeitschr. f. Phys. Chem.*, Bd. LVII, p. 1).

Warburg, 1914. Beiträge zur Physiol. der Zellen (*Erg. der Phys.*, Bd. XIV, p. 254).

Warburg, 1914. Ueber die Rolle des Eisens in der Atmung des Seeigeleis nebst Bemerkungen über einige durch Eisen beschleugten Oxydationen (*Zeitschr. Phys. Chem.*, Bd. XCII, p. 231).

Warburg, 1915. Notizen zur Entwicklungsphysiologie des Seeigeleier (*Pflüger's Arch. f. Ges. Phys.*, Bd. CLX, p. 324).

Warburg, 1921. Physikalische Chemie der Zellatmung (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. CXIX, p. 134).

Wetzel und Sommer, 1904. Die Entwicklung des Ovarialeies und des Embryos chemisch untersucht, usw. I. Die chemischen Veränderungen des Ovarialeies der Ringelnatter bis zur Reife (*Arch. f. Anat. u. Phys. Physiol. Abt.*).

Wetzel und Sommer, 1907. II. Die chemische Zusammensetzung der Eier des Seeigel ; der Seespinne des Tintebfisches und des Hundhaies (*Arch. Anat. u. Phys. Physiol. Abt.*).

Wohlgemuth, 1904. Ueber das Vorkommen der Fermente im Hühnerei (*Festschr. f. Salkowsky*, Berlin).

Wohlgemuth, 1905. Ueber den Sitz der Ferments im Hühnerei (*Zeits. f. Phys. Chem.*, Bd. XLIV, p. 541).

Wurmser, 1923. L'énergétique et la biochimie (*Bull. Soc. de Chimie Biol.*, t. V, p. 487, 490).

Zavadovsky, 1915. La membrane lipoïde semiperméable des œufs d'*Ascaris megalocephala* (en russe avec résumé français). (*Mémoires scient. de Chaniavsky, Université de la ville de Moscou.* Vol. I, 1915. *Section Sc. nat*).

CHAPITRE V

Les lois de la croissance

1. **Introduction.** — Les exemples choisis comme objets d'étude dans le précédent chapitre montrent que tout développement s'effectue avec une transformation d'énergie. Dans tous les cas où le système qui se transforme totalement ou partiellement en embryon est fermé aux apports d'énergie chimique, on constate que la transformation est exothermique et que le potentiel énergétique du système diminue. En plus du dégagement de chaleur, le travail fourni, dont la valeur peut être très petite par rapport à l'énergie transformée, produit des effets assez différents.

L'exemple de l'œuf d'*Ascaris* nous montre une segmentation et une organogenèse sans accroissement de masse, ou plus exactement avec une perte de poids de la masse organisée. Le système s'est dégradé au point de vue énergétique, mais son degré d'hétérogénéité s'est élevé d'une manière considérable.

Le cas de l'œuf de Grenouille nous montre d'abord un phénomène identique ; mais l'abondance des réserves azotées et phosphorées permet ultérieurement une véritable croissance par simple absorption d'eau ; nous caractérisons ici un travail d'organisation et un travail de croissance, auxquels correspondent des mécanismes chimiques différents.

Mais l'énergie libérée par le système est parfois inutilisable ; c'est ce que montre l'exemple de l'œuf de *Sabellaria* qui, non fécondé, dépense presque autant d'énergie pour aboutir à un état cytolytique, que fécondé pour effectuer le travail d'organogenèse.

Et ce fait nous amène à examiner, à propos de l'œuf d'Oursin, le mécanisme des oxydations effectuées par la cellule, ou tout au moins les facteurs qui peuvent agir sur le taux de ces oxydations.

Enfin, lorsque la segmentation n'est pas complète, lorsque l'embryon se développe à côté des réserves vitellines et à leurs dépens, les phénomènes sont plus complexes. On observe simultanément pendant l'embryogenèse du Poulet, un travail d'organisation et un travail de croissance ; les conditions sont telles que l'on peut établir un bilan énergétique brut de ces opérations ; et d'autre part, on cons-

tate que la transformation des substances de réserve en tissus organisés n'est pas toujours directe ; une partie de la masse organisée constitue les annexes embryonnaires transitoires qui servent d'intermédiaire.

Chez les Insectes, comme le montre maintenant le cas du Bombyx du Mûrier, la complexité s'accentue ; le premier travail d'organisation détermine la formation de deux masses tissulaires distinctes : les tissus embryonnaires et le tissu vitellin ; et le développement très long, coupé par une période quasi stationnaire, représente une série d'équilibres embryon $\rightleftarrows$ tissu vitellin.

Nous devons maintenant aborder les phénomènes de croissance proprement dits, non pas au point de vue des mécanismes chimiques qu'ils mettent en œuvre, et dont l'étude nous entraînerait hors du cadre de cet ouvrage, mais au point de vue de leur forme, dans laquelle nous tenterons de trouver des indications utilisables au point de vue analytique.

Il existe diverses manières d'exprimer la croissance d'un organisme. Les grandeurs caractéristiques et comparables peuvent être soit des dimensions linéaires telles que la longueur, soit le volume, soit encore le poids. Le volume ou le poids peuvent être mesurés en fonction de la longueur, ou en fonction de l'âge, c'est-à-dire en fonction du temps.

Pratiquement, les mesures de poids sont celles qui expriment le plus clairement les propriétés d'un organisme en voie de croissance. On peut soit noter les valeurs successives du poids en fonction du temps, soit calculer les valeurs successives de l'accroissement dans l'unité de temps, cette unité pouvant être, selon les circonstances, le jour, la semaine, le mois, ou même l'année ; soit encore calculer cet accroissement dans l'unité de temps par rapport à 100 parties du poids de l'organisme.

Malheureusement, toutes ces méthodes se heurtent à de sérieuses difficultés ; les poids d'un même individu ne sont pas toujours comparables ; les variations du contenu intestinal ne sont nullement négligeables, dans le cas des Rongeurs par exemple, dont le cæcum retient de fortes quantités d'eau. Les variations physiologiques des réserves sont aussi de grandes causes d'erreurs ; citons les variations de masse du tissu adipeux, celles du foie en rapport avec l'accumulation glycogénique, etc., etc.

Enfin, différents individus, d'une même race ou d'une même portée, ne sont pas toujours semblables ; à plus forte raison, des individus de même espèce mais de races différentes.

Or, les mesures pondérales ne peuvent pas toujours être suivies sur un même individu, s'il s'agit par exemple de connaître le poids d'un

organe ou d'effectuer un contrôle histologique nécessitant le sacrifice de l'animal étudié. Dans ces cas, les statistiques sont indispensables, mais il faut opérer sur un très grand nombre d'individus pour que les variations individuelles disparaissent dans une moyenne générale ; l'usage des moyennes présente alors un inconvénient sérieux, celui de masquer de petites variations normales.

A côté de ces difficultés pratiques, il existe des difficultés d'ordre théorique.

Les mesures pondérales effectuées successivement sur un organisme en voie de croissance indiquent la manière dont varie sa *masse totale* ; mais cette masse est complexe et comporte des substances qui, une fois formées, ne joueront aucun rôle actif dans un accroissement ultérieur. Au point de vue cellulaire, un exemple typique est celui du squelette siliceux d'un Radiolaire, substance minérale inerte qui surcharge peu à peu la cellule sans jouer aucun rôle au point de vue des phénomènes de la nutrition et de la synthèse du protoplasma. Chez les Métazoaires, un grand nombre de substances extracellulaires, substance osseuse, substance collagène, ou intracellulaires, inclusions deutoplasmiques en général, graisses, etc., peuvent être considérées comme des substances inertes ; c'est pourquoi Schaeffer et Le Breton reprennent sous une forme plus scientifique, la vieille distinction des protoplasmas supérieur et inférieur, « plus vivant » ou « moins » vivant, celle des *protoplasmas* et des *paraplasmas*, en cherchant à définir dans un système organisé la « masse active » et la « masse totale ». Cette préoccupation est à la base du très important travail de Schaeffer et Le Breton sur le dosage des amino-purines qui permet d'estimer d'une manière relative, sinon encore absolue, les variations de la masse des substances nucléaires ou plus exactement des nucléines vraies. Mais, comme le soulignent ces auteurs pour soutenir un argument opposé, l'un des facteurs d'équilibre du système cellulaire est la surface de contact des phases coexistantes ; or, nous avons déjà vu maintes fois que le degré de dispersion d'une phase, et par conséquent sa surface de contact avec une autre phase contiguë, peut varier sous des influences multiples ; dans le schéma des transformations nucléaires proposé par Della Valle, le facteur X variable pourrait être une substance inerte ne jouant aucun rôle direct dans les phénomènes de métabolisme ; mais sa croissance ou sa décroissance modifie du tout au tout l'équilibre nucléoplasmique. Et c'est pourquoi la notion morphologique de relation nucléoplasmique est peut-être plus féconde qu'une notion chimique basée sur la quantité absolue des nucléines ; nous savons en effet que les variations volumétriques du noyau dépendent non seulement de la variation absolue des substances nucléaires, mais encore de phéno-

mènes d'imbibition dont nul ne peut méconnaître l'importance au point de vue de l'équilibre du système cellulaire, comme à l'égard de son fonctionnement chimique.

Nous ferons encore une dernière remarque ; quel peut être le caractère essentiel, le « signe » de la « masse active ? » Le Breton et Schaeffer semblent bien le chercher dans les phénomènes respiratoires, la « masse active » devenant, par rapport aux combustions, une sorte d'unité qui doit être toujours comparable à elle-même. Les « corps respiratoires », Athmungskörper, de Meyerhoff, glutathion de Hopkins, constitueraient-ils de ce fait la masse active d'une cellule ou d'un organisme ?

Un tel problème semble encore bien complexe. Au point de vue de la croissance d'un organisme, le phénomène dominant, à côté des mécanismes chimiques de synthèse, est l'augmentation continuelle du degré d'hétérogénéité et la multiplication des surfaces ; à partir d'un certain stade, cette augmentation est sensiblement proportionnelle à celle de la masse totale, et c'est pourquoi l'évaluation de cette masse totale est encore le meilleur moyen de suivre *en première approximation* les phénomènes de la croissance.

2. **Forme de la croissance.** — a) *Homme.* — La croissance fœtale de l'Homme a fait l'objet d'un grand nombre de recherches, dont la difficulté principale réside dans la détermination exacte de l'âge d'un fœtus ; les données de His permettent de connaître approximativement cet âge d'après la longueur du fœtus. Balthazard (1921) a repris cette étude et l'on pourra consulter sur ce point les ouvrages très documentés de d'Arcy Thompson (1917) et de Vignes (1923 et 1924).

Jackson (1923) a comparé et critiqué tous les résultats obtenus par Ahlfeld (1871), Fehling (1877), Legou (1903), Faucon (1897), Michaelis (1906) ; après les avoir confrontés avec ses propres mesures, il établit une courbe des variations de poids du fœtus beaucoup plus régulière que celle de Ahlfeld et montre un relèvement continu de ce poids jusqu'à la naissance. Cependant, Henning (1879) aurait constaté un accroissement du taux de croissance au 6e et 8e mois, et une diminution aux 7e et 9e mois. Donaldson estime que le 6e mois de la vie fœtale est l'origine d'une nouvelle période pendant laquelle la courbe de poids absolu remonte avec rapidité. Vignes (1924) a dressé, avec le grand nombre de chiffres qu'il a pu réunir, la courbe régulière en S représentée fig. 35.

La croissance post-natale de l'homme est connue depuis les nombreuses statistiques que Quetelet a su exploiter. On observe un maximum d'accroissement *annuel* à l'âge de 5 ans 1/2 et un second maximum vers 16 ans, aux environs de la puberté.

Sans analyser davantage les documents recueillis sur la croissance de l'Homme, on peut conclure que cette croissance se fait en trois périodes distinctes, en trois cycles ; un 1er cycle, fœtal, qui n'est pas encore terminé au 9e mois et se trouve interrompu par la naissance ; ce cycle présente peut-être quelques subdivisions.

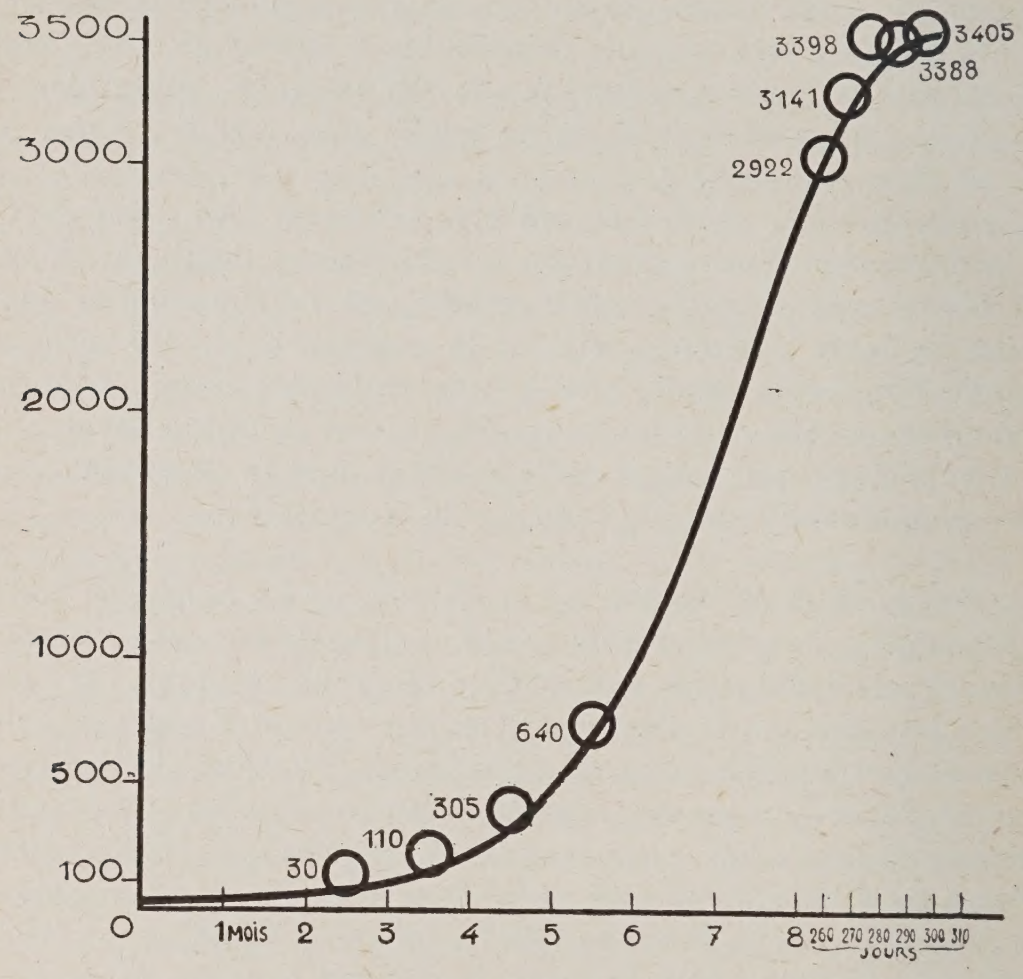


FIG. 35. — Courbe de croissance du fœtus humain, d'après VIGNES (1924). Poids en grammes, temps en mois.

Un 2e cycle, post-natal, qui présente un maximum à 5 ans 1/2.

Un 3e cycle, qui présente son maximum à l'âge de la puberté (16 ans) et se continue jusqu'à l'état adulte.

Il est possible que le cycle de croissance fœtale soit lui-même complexe, les moyennes pondérales étant incapables de donner des valeurs suffisamment précises pour les premiers stades du développement ; par l'étude des « courbures embryotectoniques », BUJARD (1914) a pu montrer que, jusqu'au stade correspondant à une longueur de 7 millimètres, l'embryon traverse trois périodes de croissance maximum.

b) *Cobaye.* — Marion Read (1913) tente de mesurer la croissance fœtale moyenne chez le Cobaye à l'aide d'une méthode indirecte, en pesant une femelle pleine tous les jours entre le coït et la naissance des petits. Mais la variation de poids obtenue ne représente pas uniquement la somme des poids des fœtus, car les annexes embryonnaires augmentent de poids progressivement et la mère elle-même n'a pas

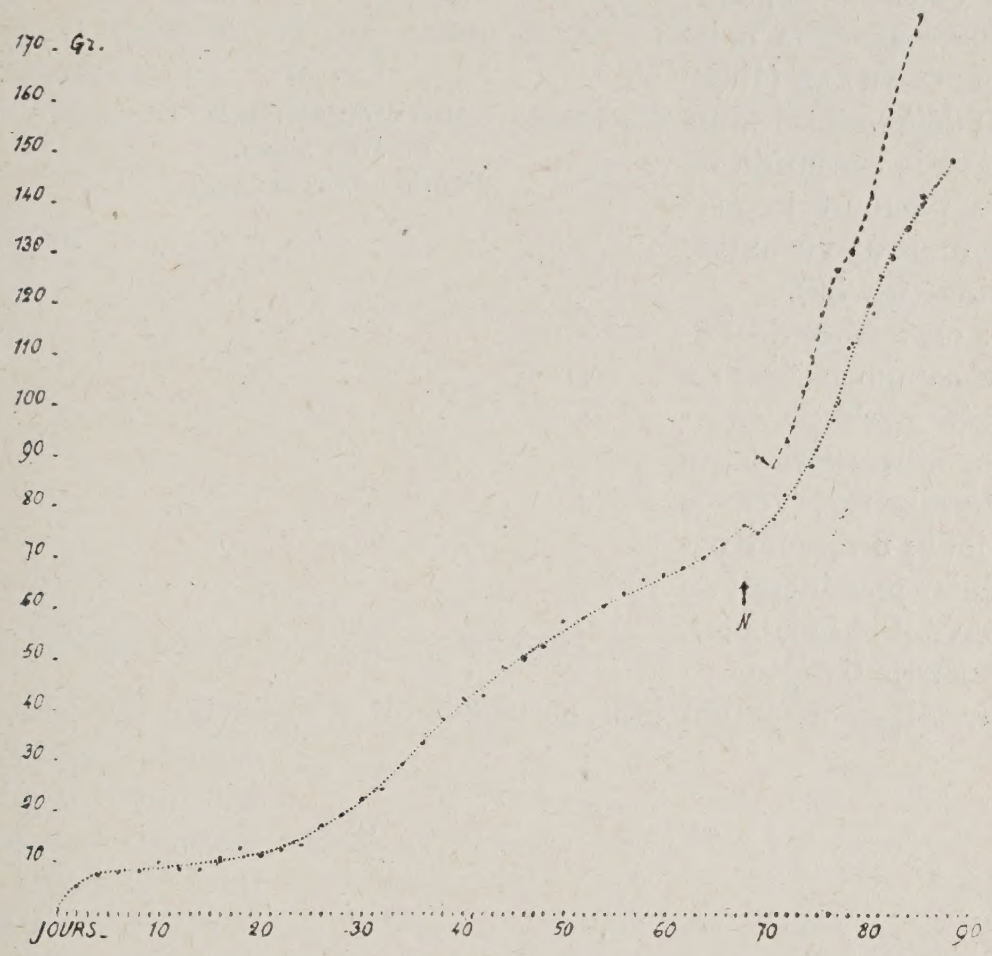


Fig. 36. — Croissance fœtale de Cobaye, d'après Marion Read et début de la croissance post-fœtale d'après le même auteur et d'après Ostwald.

un poids constant. Read note le poids initial de la mère ; à la naissance, il pèse séparément les jeunes d'une part, les annexes fœtales, puis la mère de l'autre. L'augmentation de poids constatée entre le poids final de la mère, plus le poids des annexes, et le poids initial de la mère est supposé s'être produit régulièrement et proportionnellement au temps (1) ; une simple construction géométrique permet de trouver pour un instant quelconque le poids total de la mère

(1) Ce qui est fort peu vraisemblable, mais cette approximation semble suffisante.

et des annexes fœtales, qu'il suffit de soustraire du poids directement observé pour connaître le poids des fœtus et, d'après leur nombre, le poids moyen de l'un d'entre eux.

Marion Read a poursuivi l'étude de l'accroissement pendant 20 jours après la naissance; Ostwald (1908) avait déjà mesuré sur le Cobaye la variation de poids pendant le premier mois de vie extra-utérine (fig. 36).

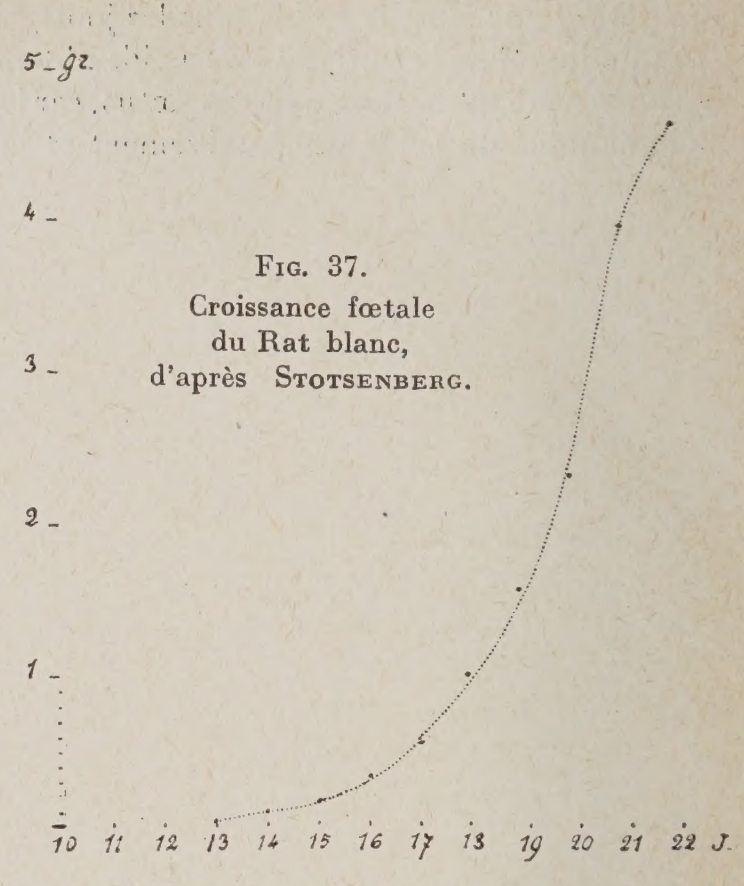


Fig. 37.
Croissance fœtale du Rat blanc, d'après Stotsenberg.

La croissance du Cobaye comporterait : un premier cycle de croissance intra-utérine qui se terminerait vers le 17e jour ; un second cycle qui se terminerait un peu avant la naissance, soit vers le 65e jour.

La naissance, au 68e jour, se trouverait sur le début du 3e cycle : celui de la croissance extra-utérine qui présenterait deux petits ralentissements du taux de croissance, le 1er au 9e jour lorsque le petit commence à manger, et le 2e au 21e jour, époque de la puberté.

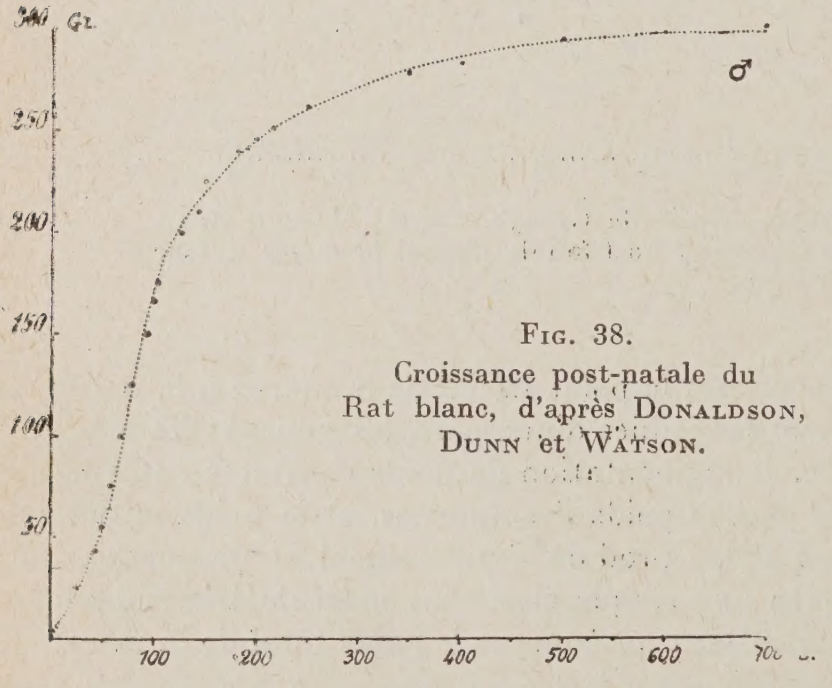


Fig. 38.
Croissance post-natale du Rat blanc, d'après Donaldson, Dunn et Watson.

D'après Bessesen et Carlson (1923) la croissance post-natale commencerait à diminuer après une centaine de jours environ.

c) *Rat.* — La croissance fœtale du Rat a été étudiée par Stotsenberg (1913) ; la croissance extra-utérine est bien connue par les

mesures et les statistiques de Donaldson (1906 et 1912), Dunn (1908), Chisolm (1911), Ferry (1913), Jackson (1913), King (1915) (1).

Le premier cycle de croissance occupe toute la période fœtale et se termine le 22e jour au moment de la naissance (fig. 37). Le deuxième cycle débute à la naissance et présente un maximum du taux de croissance vers le 60e jour (fig. 38) ; il dure un peu plus d'un an.

Peut-être existe-t-il un troisième cycle, que les courbes de King semblent indiquer, et qui commencerait vers le 460e jour de vie extra-utérine.

d) *Poulet.* — La croissance embryonnaire du Poulet est bien connue,

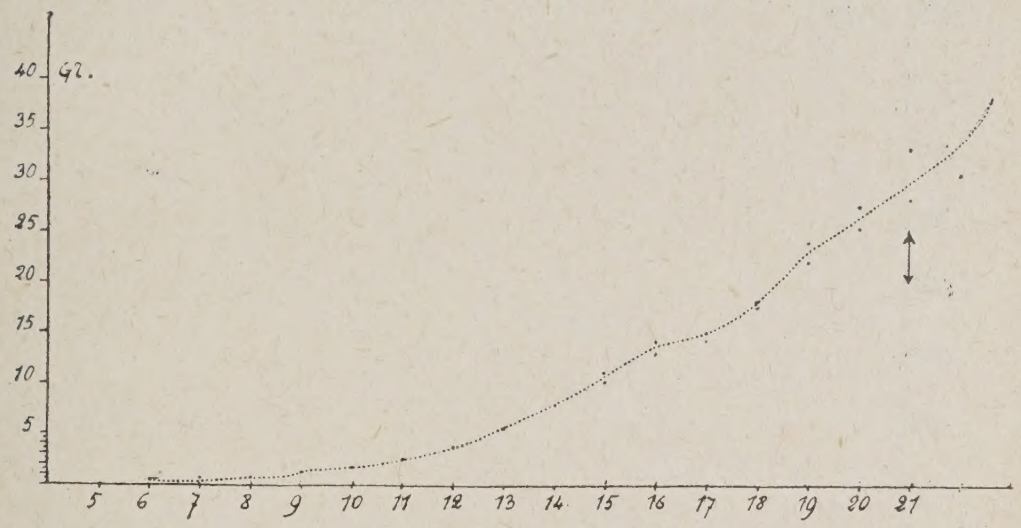


Fig. 39. — Croissance pondérale de l'embryon de Poulet (sans les annexes), d'après les chiffres de Le Breton et Schaeffer. Temps comptés en jours.

grâce aux mesures précises qui ont pu être faites sur des embryons dépourvus de leurs membranes, par Hasselbach (1900), Lamson et Edmund (1914), Le Breton et Schaeffer (1923). Le taux de croissance présente deux maximums, dont chacun caractérise un cycle ; le dernier précédant immédiatement le début du 3e cycle qui commence avant l'éclosion, laquelle se produit au 22e jour en pleine période de croissance. Voici les temps correspondant à ces maximums :

	1er Maximum	2e Maximum	Début du 3e cycle
Hasselbach.....	13e jour	17e jour	18e jour
Lamson et Edmund.....	11e jour	16e jour	17e jour
Le Breton et Schaeffer..	9e jour	16e jour	17e jour

Les différences qui existent entre ces déterminations tiennent sans doute au fait que ces auteurs ont étudié des races différentes.

(1) Voir la monographie de Donaldson (1915).

La croissance post-natale a été étudiée sur la race Rhode-Island rouge par Card et Kirkpatrick, et les courbes correspondantes tracées par Brody (1921). Les pesées ont été faites pendant les 24 semaines suivant l'éclosion, sur quelques centaines de Poulets de même race ; les moyennes sont donc excellentes. Le taux de croissance atteint un premier maximum à la 9e semaine et un second à la 19e.

Brody, Henderson et Kempster (1923) ont également étudié la loi pondérale de la production des œufs en fonction de l'âge

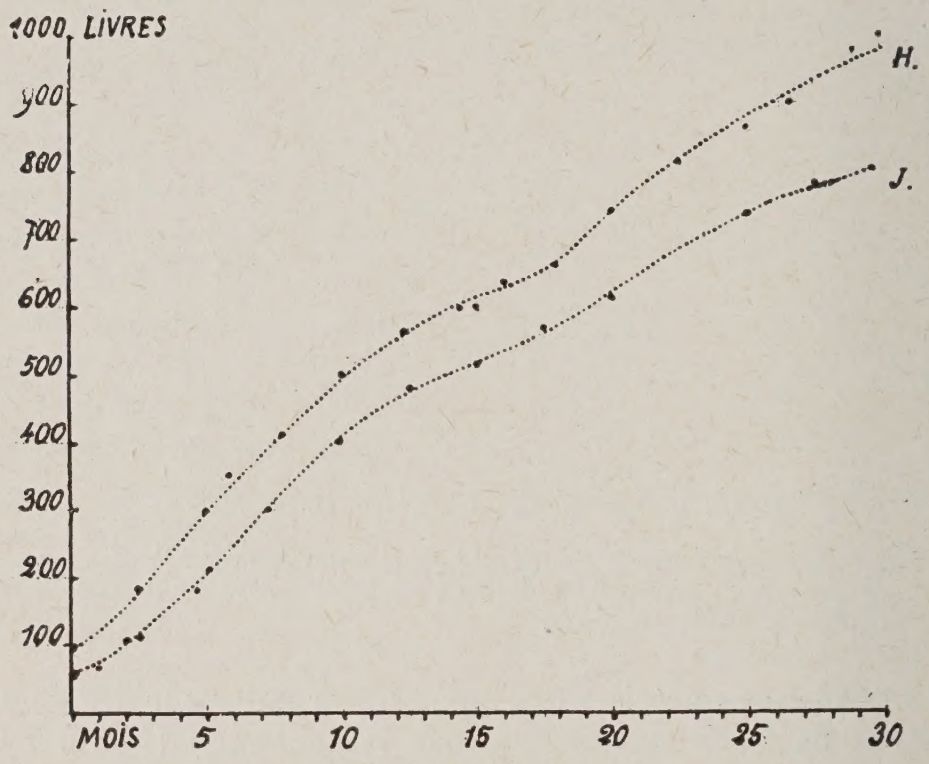


Fig. 40. — Croissance pondérale extra-utérine chez la Vache (Boody et Ragsdale).

(voir p. 237). En résumé, on trouve chez la Poule deux cycles de croissance embryonnaire ; un 3e cycle commence avant l'éclosion et finit vers la 13e semaine ; un 4e cycle commence alors et se termine vers la 24e semaine.

On remarquera que les deux maximums de la courbe du taux de croissance embryonnaire sont situés de telle sorte. l'un par rapport à l'autre, que dans tout autre cas où les mesures seraient moins précises, les différences individuelles plus accentuées, le développement plus lent, l'usage des moyennes tendrait à les effacer et à les confondre sur une même courbe, en sorte que le développement embryonnaire paraîtrait monocyclique.

c) *Mouton.* — Les données relatives à la croissance fœtale du Mou-

ton sont incomplètes ; on peut, d'après les chiffres de Gurlt (1847), interpoler une courbe des variations de longueur en fonction du temps, permettant de connaître l'âge d'un fœtus d'après une simple mesure. La pesée de nombreux fœtus montre que le taux de croissance embryonnaire passe par un maximum vers la 12e semaine et semble augmenter à nouveau à partir de la 20e semaine. (Fauré-Frémiet et Dragoiu 1923). Il y aurait donc un cycle de croissance

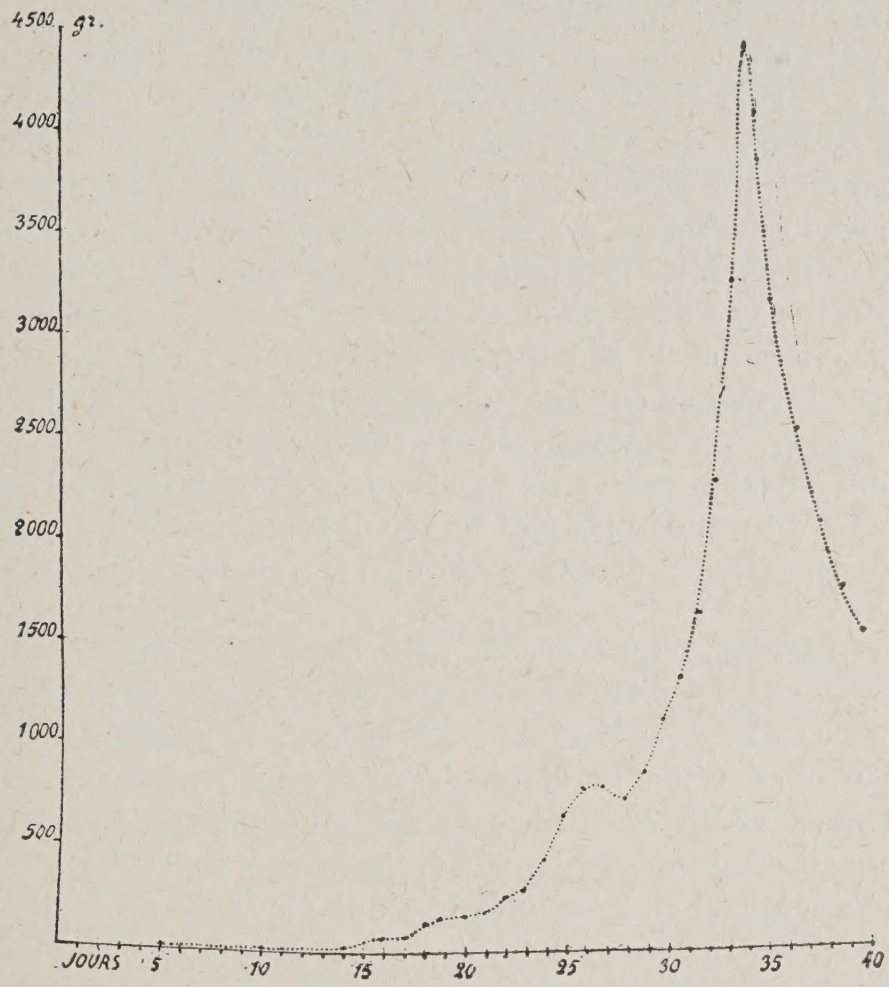


Fig. 41. — Accroissement progressif en poids de la larve du Ver à soie, d'après Luciani et Lo Monaco.

fœtale et le début d'un nouveau cycle au cours duquel se produit la naissance.

f) *Souris.* — Seule la croissance extra-utérine a été étudiée chez la Souris. Ostwald calcule les poids moyens d'après la somme des poids de 7 individus d'une même portée. Il constate un premier maximum du taux de croissance à la fin de la 2e semaine, et un second à la 6e semaine. Robertson (1916) trouve un autre maximum dans la 1re semaine et celui-ci est indiqué par la courbe d'Ostwald ; peut-être correspond-il à la fin du cycle fœtal, non terminé à la naissance. La fin du premier cycle de croissance extra-utérine correspond

à l'ouverture des yeux et au sevrage, celle du 2e cycle correspond au début de la puberté.

g) *Vache.* — La croissance extra-utérine est étudiée par Brody et Ragsdale sur un grand nombre d'individus de races Jersey et Holstein. Cette croissance montre deux cycles semblables (fig. 40) avec un taux de croissance maximum au 5e mois (1er cycle) et au 20e mois (2e cycle).

Comme il existe un premier cycle de croissance fœtale avec un maximum indéterminé, la croissance de la Vache serait tricyclique.

Brody, Ragsdale et Turner (1923) ont étudié la loi pondérale de la production de lait en fonction de l'âge (voir p. 237).

h) *Animaux à métamorphoses.* — Le têtard de Grenouille présente sitôt après l'éclosion un premier cycle de croissance dont nous avons parlé dans le chapitre précédent ; c'est la croissance « autophagique » qui s'effectue par absorption d'eau.

Un deuxième cycle se superpose au premier, c'est la période de croissance régulièrement ascendante dont Schaper (1902) a tracé la courbe ; mais ce cycle est brusquement interrompu par la métamorphose qui entraîne une chute extrêmement rapide du poids pendant laquelle s'effectue un important travail de réorganisation ; un troisième cycle de croissance débute aussitôt la transformation du têtard achevée.

Les phénomènes sont encore plus complexes chez les Insectes. Ostwald a tracé (fig. 41) d'après les chiffres de Luciani et Lo Monaco (1897) la courbe de croissance pondérale de la chenille du *Bombyx mori.* On observe un maximum du taux de croissance à la suite de chacune des 2e, 3e et 4e mues. Le taux diminue ou s'annule pendant le « sommeil » qui précède immédiatement une mue.

Le 4e « sommeil » s'accompagne d'une chute de poids avec élimination d'azote, qui précède immédiatement la grande période d'accroissement entre le 28e et le 36e jour. Celle-ci caractérise le 4e cycle de croissance larvaire.

Pendant la nymphose, la perte de poids et d'azote est considérable.

Carlo Jucci (1922) a réuni de nombreux documents sur l'accroissement du Ver à soie au cours de chacune de ces périodes.

3. **Etude analytique de la croissance.** — Dans chacun des exemples précédents, le tracé en fonction du temps des variations de poids d'un organisme en voie de croissance dessine une courbe en forme de S ou plus exactement une série de courbes de telle forme, chacune d'elles correspondant à un cycle de croissance. En d'autres termes, le taux de croissance n'est pas constant, et au cours d'un cycle il prend successivement toute une série de valeurs comprises entre un

maximum et deux minimums qui peuvent se rapprocher de zéro. La signification de cette loi générale peut être étudiée plus facilement si, ayant déterminé les équations caractéristiques des courbes de croissance, on peut comparer celles-ci. L'expression mathématique des courbes de croissance a été cherchée maintes fois, et les auteurs sont arrivés soit à des formules empiriques plus ou moins approchées, soit à des équations conçues d'après une idée théorique, visant à donner une représentation plus exacte des mécanismes de la croissance.

a) *Formules empiriques ou approchées.* — Roberts (1906) admet que, pendant la croissance du fœtus humain, le poids croît proportionnellement au cube de l'âge ; soit le poids P en grammes et l'âge T en jours (comptés depuis l'origine) ; on trouve donc :

$$P = T^3. \quad (1)$$

Tuttle (1908) propose une formule dans laquelle des coefficients interviennent, soit :

$$P = 50\,(T - 2)^2 \quad (2)$$

dans laquelle P est exprimé en grammes et T en mois.

Jackson (1909) calcule P en grammes, T étant exprimé en jours, d'après l'équation :

$$P = \left(\frac{T}{37}\right)^4. \quad (3)$$

Pour la croissance extra-utérine du Rat blanc, Donaldson, Dunn et Watson calculent P en grammes, T étant exprimé en jours comptés à partir de la naissance, avec des équations de la forme :

$$P = a + bT + cT^2 \quad (4)$$

lorsque l'âge est compris entre 10 jours et 80 jours, et de la forme :

$$P = a \log T - bT - c \quad (5)$$

lorsque l'âge est compris entre 80 jours et 365 jours.

Les coefficients a, b et c ont des valeurs variables suivant que l'on se trouve dans les cas (4) ou (5) et suivant le sexe de l'animal ; on trouve ainsi :

Rat blanc mâle :

$$P = 11{,}199 + 0{,}475\,T + 0{,}0184\,T^2 \quad (4) \quad (T > 10 \text{ et } < 80 \text{ jours})$$

et

$$P = 448 \log T - 0{,}52\,T - 678{,}2 \quad (5) \quad (T > 80 \text{ et } < 365 \text{ jours})$$

Rat blanc femelle :

$$P = 8{,}071 + 0{,}367\,T + 0{,}0131\,T^2 \quad (4)$$

$$P = 343 \log T - 0{,}41\,T - 498{,}8 \quad (5).$$

b) *Equations donnant une représentation générale des phénomènes.* Robertson (1908) introduit dans l'étude des formes de la croissance,

la notion de *vitesse*. On a vu que, au cours d'un cycle, le taux de croissance passe par un maximum ; ce taux de croissance est un coefficient d'accroissement par unité de temps ; l'inverse de ce coefficient est une vitesse, qui est évidemment d'autant plus grande que l'unité d'accroissement se réalise dans le temps le plus court. Nous pouvons donc dire que la caractéristique d'un cycle est que, au cours de celui-ci, la vitesse de croissance varie continuellement et passe par un maximum ; les variations de cette vitesse en fonction du temps sont alors représentées par une courbe en cloche.

Robertson est frappé de l'analogie que cette courbe en cloche présente avec celles qui expriment certaines réactions monomoléculaires et autocatalytiques.

Imaginons la réaction A→B telle que la transformation soit accélérée par la substance formée B ; la vitesse augmentera d'abord proportionnellement à la masse de cette substance B, mais elle n'augmentera pas indéfiniment, car elle dépend évidemment aussi de la masse transformable A, et lorsque celle-ci tend vers zéro, la vitesse de transformation tend à s'annuler. On peut supposer que le maximum de vitesse sera atteint lorsque la masse de substance transformée et la masse de substance transformable seront équivalentes, et que, ensuite, la vitesse décroîtra proportionnellement à la masse de substance A.

Soit maintenant x la substance formée ; la vitesse de croissance $\frac{dx}{dt}$ est proportionnelle d'une part à x (puisque la transformation est autocatalytique) et d'autre part à $(A - x)$, d'où

$$\frac{dx}{dt} = kx\,(A - x) \tag{6}$$

k étant la constante de vitesse. On trouve en différenciant cette expression que le maximum est atteint pour $x = A - x$ ou, ce qui revient au même,

pour $x = \frac{1}{2} A$.

En résumé, la vitesse de transformation est à tout instant proportionnelle à la masse de substance transformable et à la masse de substance transformée.

En intégrant, on obtient :

$$\int dt = \int \frac{dx}{kx\,(A - x)} \quad \text{d'où} \quad t = \frac{1}{Ak} \log \frac{x}{A - x} + c$$

ou

$$\log \frac{x}{A - x} = Akt + c.$$

c étant la constante d'intégration.

Lorsque la réaction est à moitié de la transformation totale :

$$x = \frac{1}{2}\,\mathrm{A}, \quad \text{d'où} \quad \log\frac{\mathrm{A}-x}{x} = 0$$

(donc $\mathrm{A}kt+c=0$).

Si l'on appelle t_1 le temps correspondant à l'état $x = \frac{1}{2}\,\mathrm{A}$, on écrira pour connaître la valeur de c :

$$\log\frac{x}{\mathrm{A}-x} = 0 = \mathrm{A}kt_1 + c$$

$$c = -\mathrm{A}kt_1$$

d'où

$$\log\frac{x}{\mathrm{A}-x} = \mathrm{A}k\,(t-t_1) \tag{7}$$

Dans le cas d'une courbe de croissance, Robertson calcule le poids x de l'organisme (ou d'un organe) au temps t, d'après l'équation (7) dans laquelle A est le poids final ou maximum atteint par l'organisme, t_1 le temps correspondant au poids $\frac{\mathrm{A}}{2}$ et K une constante que l'on détermine pour des valeurs connues de x et de t :

$$\mathrm{K} = \frac{\log\dfrac{x}{\mathrm{A}-x}}{t-t_1}$$

L'équation d'un cycle de croissance est alors :

$$\log\frac{x}{\mathrm{A}-x} = \mathrm{K}\,(t-t_1) \tag{8}$$

et Robertson montre que l'accord est excellent entre les valeurs calculées par cette relation, et les chiffres trouvés pour la croissance de l'Homme, du Rat, etc., et même des Végétaux.

Le point de départ théorique de l'équation de Robertson et cette équation elle-même ont été l'objet de discussions et de développements de la part de Ostwald (1913), Chodat et Monnier, Enriques (1909), J. Loeb, etc.

Dans le cas d'une croissance polycyclique, si w est le poids gagné pendant la durée du 1er cycle, et x_1 le poids de l'animal au temps t du 2e cycle, on pose :

$$\log\frac{x_1-w}{\mathrm{A}-(x_1-w)} = \mathrm{K}\,(t-t_1).$$

L'hypothèse des processus autocatalytiques de croissance, que nous avons déjà vu exposée par J. Loeb à propos de la croissance

nucléaire pendant la segmentation, est sans doute intéressante, mais l'équation de Robertson peut être utilisée indépendamment de tout schéma théorique et devient un excellent instrument de travail.

Avant de chercher la signification profonde des cycles de croissance (1), nous devons remarquer que la croissance d'un organisme est la résultante d'un ensemble très complexe de phénomènes. L'étude détaillée des courbes exprimant cette croissance doit pouvoir révéler quelques détails de cette complexité, et en premier lieu les relations qui unissent la croissance de différents organes ou de différents tissus.

L'observation montre que la croissance d'un organe déterminé est liée à celle du corps entier (2) et par conséquent à l'accroissement de chacun des autres organes ; pourtant chaque organe possède généralement sa forme de croissance propre.

Hatai (1913) trouve entre l'accroissement du poids Y d'un organe et l'accroissement du poids total X du corps chez le Rat, des relations bien définies telles que :

$$Y = a\,X + b \log X + c \qquad (10)$$

et dans quelques cas plus simples :

$$Y = b \log X + c \qquad (11)$$

a, b, c sont des constantes déterminées d'après quelques mesures directes de Y et de X.

Pour la rate, par exemple, soit R le poids de l'organe et P le poids du corps, les coefficients a, b, c ont les valeurs suivantes :

$$R = 0{,}00245\,P + 0{,}0301 \log P - 0{,}025. \qquad (10)$$

Pour d'autres organes, on devra ajouter ou retrancher du poids du corps un nombre constant convenablement choisi ; le poids du poumon L, par exemple, sera donné par l'équation :

$$L = 0{,}00471\,(P + 2) + 0{,}122 \log (P + 2) - 0{,}056. \qquad (12)$$

Enfin, dans le cas des organes génitaux, une seule équation ne peut exprimer la relation qui existe entre les variations du poids du corps et celles du poids de l'organe. Hatai distingue dans ce cas deux ou trois périodes successives.

---

(1) Le Breton et Schaeffer doutent de leur intérêt parce qu'ils expriment les variations de la masse totale et non pas uniquement celles de la « masse active » de l'organisme.

(2) Voir à ce sujet les travaux relatifs au développement et à la croissance des capsules surrénales : Cazzaniga (1922).

Pour le testicule, le poids T de l'organe sera donné par l'équation :

(13) $T = 0{,}043 - 96{,}6.10^{-5} P^2 + 16{,}3.10^{-5} P^2$

si $P > 10$ et < 80

et ensuite par

(11) $T = 2{,}910 \log P - 4{,}52$

si $P > 80$.

Hatai distingue trois périodes dans la croissance de l'ovaire dont le poids Ov est donné par les équations suivantes :

(14) 1re période : $P < 50$ $\quad Ov = 0{,}01 (P + 3) - 82.10^{-4}$.

(15) 2e période : $P > 50$ et < 80 $\quad Ov = 0{,}0425 - 12{,}1.10^{-4} P + 10{,}8.10^{-6}$.

(16) 3e période : $P > 100$ $\quad Ov = 0{,}007 (P - 105) + 35{,}2.10^{-3}$.

Jackson (1909) a tracé les courbes propres de la variation de poids de chaque organe pendant le développement fœtal de l'Homme ; il rapporte les poids trouvés à 100 parties du poids du corps total, et ne cherche pas de formules de liaison.

En 1913, le même auteur étudie la croissance extra-utérine du Rat blanc et se sert des formules de Hatai qui donnent généralement une bonne concordance avec les mesures pondérales directes. Jackson établit également la courbe des variations de poids des organes proportionnellement à 100 parties du poids total du corps.

Pearl (1909) a proposé, pour différents organes, une équation de la forme $y = A + C \log (x + \beta)$, dans laquelle y et x sont respectivement le poids de l'organe et le poids du corps.

Robertson montre que l'accroissement pondéral ou volumétrique d'un organe peut être représenté par une équation du type (8).

Les relations d'interdépendance entre la croissance d'un organe et celle du corps peuvent s'exprimer comme suit ; soit la croissance d'un organe :

(17) $$\log \frac{x'}{A_1 - x'} = K_1 (t - t_1)$$

et la croissance du corps tout entier :

(18) $$\log \frac{x''}{A_2 - x''} = K_2 (t - t_2)$$

on multiplie par $\frac{K_1}{K_2}$ les deux membres de l'équation (18) et soustrayant de l'équation (17) on a :

(19) $$\log \frac{x'}{A_1 - x'} = \frac{K_1}{K_2} \log \frac{x''}{A_2 - x''} + K_1 (t_2 - t_1)$$

laquelle peut s'écrire :

$$\log \frac{x'}{A_1 - x'} = a \log \frac{x''}{A_2 - x''} + b \qquad (20)$$

et

$$\text{si} \quad a = \frac{K_1}{K_2} \quad \text{et} \quad b = K_1 (t_2 - t_1).$$

l'équation (20) peut encore s'écrire :

$$\frac{x'}{A_1 - x'} = \left(\frac{x''}{A_2 - x''} \right)^a .10^b. \qquad (21)$$

Si $t_2 = t_1$, b=0 et les deux cycles de croissance liés passent simultanément par une phase d'égale vitesse, donc $\frac{K_1}{K_2} = 1$ (ou $a = 1$) et l'équation (21) se simplifie :

$$\frac{x'}{x''} = \frac{A_1}{A_2}. \qquad (22)$$

Robertson calcule d'après les chiffres de Vierordt que le cycle de croissance du cerveau humain est à moitié de sa longueur avant la puberté ; l'équation (20) s'applique d'une manière satisfaisante. Elle s'applique aussi aux chiffres de Donaldson sur le développement du cerveau chez le Rat.

Kellicott (1908) a étudié la croissance totale de la Roussette (*Mustelus canis*) pendant cinq années successives ainsi que la croissance propre de chaque organe. L'organisme est un complexe dans lequel les différents organes réagissent les uns sur les autres par un mécanisme humoral, de sorte que leurs croissances propres se régularisent et se limitent réciproquement.

c) *Accroissement pondéral des produits formés par l'organisme.* — Brody et ses collaborateurs ont étudié la formation en fonction de l'âge de produits de l'activité organique qui sont en rapports étroits avec la croissance des éléments actifs des organes considérés. Tels sont le lait, pendant la sécrétion duquel une partie de la cellule se détruit en passant dans le produit formé, et les œufs, résultant de la croissance des oocytes, par la formation du vitellus, et constituant un produit éliminé par la ponte.

En ce qui concerne le lait, Brody, Ragsdale et Turner (1923) observent qu'entre l'âge de deux ans, qui marque le début ordinaire de la sécrétion lactée, et l'âge de neuf ans, auquel le poids maximum du corps est atteint, la production pondérale des matières grasses du lait augmente parallèlement à l'accroissement pondéral du corps ; ces deux accroissements peuvent donc être représentés par des équations de même forme, et l'on compte que la production annuelle de

beurre augmente de 20 % de l'augmentation du poids du corps (race Jersey Castle). La sécrétion lactée comptée en graisses est donc en rapport très étroit avec la croissance totale de l'organisme, et peut servir à la mesurer ; soit F le poids des matières grasses produites en 1 an, et P le poids du corps, on trouve la relation simple :

$$F = aP + b$$

qui définit une droite. Mais, passé l'âge de huit ans, le poids du corps reste pratiquement constant pendant plusieurs années, tandis que la production du lait diminue suivant une courbe exponentielle. La durée totale de la vie d'une Vache atteint 30 ans, et la sécrétion lactée porte sur 15 années ; Pearl et ses collaborateurs ont établi de manière empirique la formule suivante pour exprimer la variation de la sécrétion lactée avec l'âge :

$$y = a + c\,x^2 + d \log x$$

dans laquelle y est la production du lait, x l'âge, c et d des coefficients.

Brody et ses collaborateurs cherchent à représenter cette liaison par une formule ayant une signification théorique, et, se basant sur l'hypothèse de Robertson, ils pensent que la courbe totale de la production du lait en fonction de l'âge se ramène approximativement à celles de deux réactions monomoléculaires simultanées. Cette conception les conduit à des conclusions générales qui seront résumées plus loin (voir p. 326).

Chez la Poule, Brody, Henderson et Kempster (1923) constatent que la production des œufs diminue régulièrement depuis le début de la 2e année, jusqu'à la fin de la 8e année d'âge ; cette décroissance suit une courbe exponentielle telle que le nombre des œufs produits en une année est une fraction sensiblement constante du nombre des œufs produits l'année précédente ; dans le cas étudié, le total annuel du nombre des œufs représente en effet 88 % de celui observé pour l'année d'avant. E_t, étant la production des œufs à l'âge t, e la base des logarithmes naturels, A et K des constantes, on obtient la relation

$$E_t = Ae - Kt$$

Cette équation permet de calculer par intégration le nombre total des œufs pondus, soit 1369. Mais l'observation histologique des ovaires montre que le nombre total des oocytes présents dans cet organe est de beaucoup supérieur à ce chiffre ; la croisssance de ces oocytes, c'est-à-dire la vitellogenèse, n'est donc point limitée par le nombre des cellules germinatives, mais bien plutôt par la « diminution

de vigueur d'un ou de quelques organes » c'est-à-dire, en d'autres termes, par une modification progressive de l'organisme extérieure aux modifications possibles de l'ovaire ; la croissance des œufs, considérée indépendamment de la croissance de l'ovaire proprement dit, est donc liée à l'*état* des autres organes, comme la croissance de chacun de ceux-ci apparaît liée à la croissance totale du corps, d'après les recherches de Hatai et de Jackson.

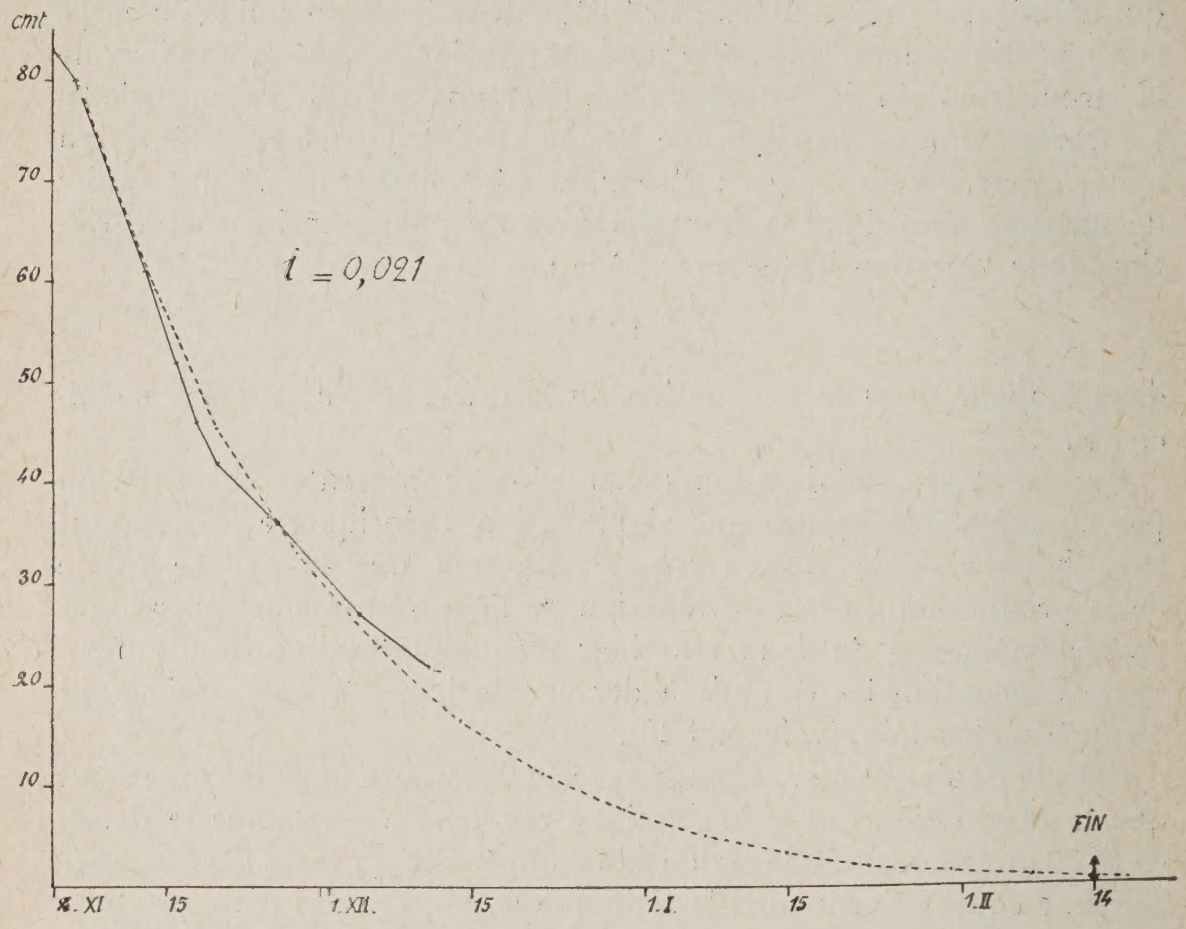


Fig. 42. — Cicatrisation d'une plaie superficielle, (Pansement paraffiné), d'après Fauré-Fremiet et Pfulb.

La courbe en trait plein représente les mesures réelles, interrompues entre le moment où la surface est déjà très réduite et la fin de la cicatrisation marquée par une flèche. La courbe pointillée continue est calculée avec l'équation de Leconte du Noüy. (Les temps sont comptés en jours depuis le début de décembre jusqu'au 14 février suivant ; les surfaces sont exprimées en cm carrés).

4. **Cas particuliers de croissance cyclique.** — La régénération totale ou partielle d'une partie d'un organisme représente un phénomène de croissance limité ; les documents quantitatifs ne semblent pas assez nombreux pour permettre de comparer les phénomènes de croissance régénérative aux phénomènes de croissance du développement normal, sauf cependant dans un cas spécial, celui de la régénération cutanée, pendant la cicatrisation d'une blessure superficielle.

Si l'on suppose l'épaisseur de la couche épithéliale malpighienne approximativement constante, une simple mesure de la surface épithéliale produite en un temps donné est une mesure de la masse de tissu formé, ou de la vitesse du processus de cicatrisation.

Carrel en 1908 avait entrepris l'étude expérimentale et systématique du problème quantitatif de la cicatrisation des plaies cutanées. La guerre est venue donner à ces recherches un intérêt immédiat, car les lois de la cicatrisation étant connues, il devenait possible de déceler les moindres troubles au cours du traitement d'une blessure, troubles généralement en rapport avec une infection plus ou moins grave, plus ou moins localisée. Le procédé expérimental consiste en des mesures de la surface cruentée faites à des temps connus ; cette surface diminue continuellement et la différence entre deux mesures consécutives donne évidemment la surface épithéliale néoformée dans l'intervalle de temps qui les sépare.

Les mesures de surface sont obtenues à l'aide du planimètre sur un décalque de la plaie effectué dans les meilleures conditions possibles d'exactitude et d'asepsie.

Les résultats obtenus par Carrel et Hartmann montrent que la vitesse de cicatrisation, c'est-à-dire la diminution de surface en fonction du temps, n'est pas constante, et varie proportionnellement à la surface de la plaie.

Lecomte du Noüy (1916 et 1917) a déterminé de manière empirique une formule permettant d'exprimer, dans des conditions considérées comme normales, la marche de la cicatrisation, et la variation de la vitesse de ce phénomène.

Soit St la surface de la plaie au temps t, et S$t + t'$ la surface mesurée après un intervalle de temps t'; soit T l'âge de la plaie compté à partir de l'observation initiale, et i un coefficient spécifique d'autant plus grand que l'individu est plus jeune (1), on trouve :

$$(1) \qquad \frac{St - (St + t')}{St} = i\,(t' + \sqrt{T}).$$

Alice Hartmann (1916), Tuffier et Desmarres (1918), Carrel et Lecomte du Noüy (1921), ont démontré l'intérêt pratique de cette représentation des phénomènes, et les chiffres calculés à l'aide de l'équation (1) correspondent très bien aux valeurs trouvées, dans les cas considérés comme normaux.

---

(1) Lecomte du Noüy a construit un abaque permettant de connaître approximativement d'après l'âge, la valeur de i.

Le calcul du coefficient i s'obtient d'après l'équation

$$i = \frac{\frac{S - St}{S}}{t + \sqrt{t}}$$

S étant la surface initiale, et S′ la surface après t jours.

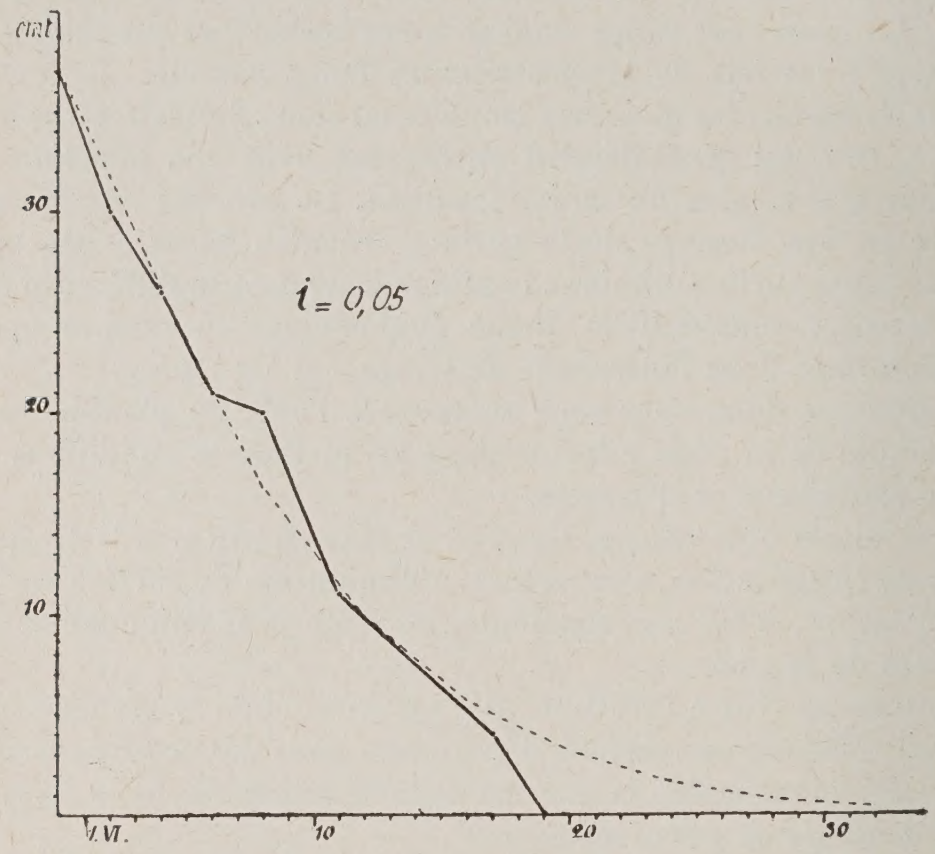


FIG. 43. — Cicatrisation d'une plaie étroite.
La courbe continue est calculée par la formule générale de LECONTE DU NOÜY d'après FAURÉ-FREMIET et PFULB (pansement paraffiné).

Le calcul de la surface S″ de la blessure au temps t' ultérieur s'effectue au moyen des valeurs S′ et i :

$$S'' = S' [1 - i (t' + \sqrt{t} + t')]$$

la courbe complète permettant de prévoir la marche de la cicatrisation normale peut être calculée de proche en proche par le même procédé :

$$S''' = S'' [1 - i (t' + \sqrt{t} + t')]$$

Dans le cas des plaies longues et étroites, la cicatrisation se termine toujours plus tôt que ne l'indique le calcul. et LECOMTE a donné la formule d'une correction applicable à ces cas.

A. LUMIERE (1917-18 et 1922) a cherché dans une autre direction une

formule permettant de comparer l'évolution de deux plaies différentes, ou soumises par exemple à des traitements différents. Les valeurs successives de la largeur L d'une plaie sont données par l'équation

$$T = \frac{1}{\varphi}$$

dans laquelle T est le temps et φ une constante dont la valeur moyenne est 1,04.

A. Lumiere cherche en quelque sorte, nous y reviendrons tout à l'heure, l'expression d'une « vitesse absolue » de cicatrisation.

Jaubert de Beaujeu (1917), Rufz de Lavison, Lecomte du Noüy (1910) ont cherché de nouvelles formules plus adéquates au problème traité en partant de l'expression différentielle

$$\frac{dS}{dt} = KS.$$

Vlès et Fauré-Fremiet (1918 et 1919) ont cherché si la formule de Lecomte du Noüy ne pouvait être rapprochée de la formule de Robertson, la forme des phénomènes de cicatrisation étant la même que celle des phénomènes de croissance normale ; en effet la cicatrisation, ou diminution de la surface cruentée est l'inverse de la croissance épithéliale, dont nous avons supposé la masse proportionnelle à la surface.

Vlès pose :

$$\frac{dS}{dt} = KS(S_0 - S) \quad \text{ou} \quad \frac{dS}{S(S_0 - S)} = K\,dt$$

et en intégrant :

$$\log \frac{S}{S_0 - S} = KS_0 t + c.$$

La constante d'intégration c est donnée par la relation :

$$\log \frac{S_0 - S}{S} = 0 \quad \text{ou} \quad \frac{S}{S_0 - S} = 1 \quad \text{ou} \quad S = \frac{S_0}{2}$$

ce qui donne :

$$c = -KS_0 t\frac{1}{2},$$

équation dans laquelle $t\frac{1}{2}$ représente le temps auquel la cicatrisation est à moitié, soit le terme t_1 de l'équation de Robertson.

On est donc conduit à exprimer la cicatrisation comme une croissance de tissu, et comme une croissance cyclique, car la formule

$$\log \frac{S}{S_0 - S} = K S_0 \left(t - t\frac{1}{2}\right)$$

est identique à l'équation de Robertson.

Remarquons seulement que K n'est une constante que pour des individus de même âge et de même valeur physiologique ; K varie avec l'âge comme le coefficient *i* de LECOMTE. Nous y reviendrons dans un autre chapitre à propos de recherches toutes différentes. En dehors de ce fait important, nous devrons encore remarquer que les phénomènes de la cicatrisation sont très complexes ; la croissance épithéliale n'entre pas seule en jeu, comme le montre la « contraction » si caractéristique des premières périodes de la cicatrisation.

D'autre part, A. LUMIERE insiste sur un fait qui semble en opposition avec les données de CARREL : le « travail de réparation des tissus, écrit-il, est un phénomène régulier dans son ensemble, et n'est pas plus rapide au début qu'à la fin de la cicatrisation » ; la vitesse de cicatrisation est constante, cela veut dire que l'unité de masse épithéliale s'accroît dans l'unité de temps *d'une valeur constante* ; ce qui varie, c'est la masse épithéliale *susceptible de s'accroître*, laquelle diminue continuellement du fait de la croissance centripète (1).

Il n'existerait donc pas un facteur d'inhibition comme VLÈS et FAURÉ-FREMIET l'avaient supposé.

De nouvelles recherches pourraient être faites suivant un mode expérimental opposé, c'est-à-dire en mesurant l'accroissement d'un îlot épithélial s'étendant progressivement, comme une culture, sur la surface des bourgeons charnus.

5. **Les variations de composition chimique au cours de la croissance.** — De nombreuses recherches ont montré la variation quantitative au cours du développement de certains constituants essentiels des tissus : eau, substances minérales, azote, etc.

Citons à côté des recherches de BENEDICT et TALBOT, BURIAN, LA FAYETTE MENDEL et LEAVENWORTH, BULLOCK et CRAMER, SCHAEFFER et LE BRETON, MOULTON, etc., ceux de VANEY et MAIGNON sur le Ver à soie, de SCHAPER sur la Grenouille, etc., etc. (2).

Les documents apportés par ces recherches sont encore assez limités, et, malgré le haut intérêt qu'ils présentent au point de vue du développement normal ou pathologique (tumeurs et néoplasmes), nous n'insisterons pas davantage.

---

(1) DELBET et N. FIESSINGER (1918) ont également critiqué dans ce sens les formules de CARREL et de LECOMTE DU NOÜY.

(2) Mlle MENDELEEFF (1923) a constaté pendant le développement embryonnaire du Cobaye une augmentation progressive du *p*H du sérum sanguin embryonnaire qui passe de 5,8 (embryon à mi-terme) à 6,2 (3 heures après la naissance) et qui atteint sa valeur normale 6 jours après la naissance seulement. CHAUFFARD, GUY LAROCHE, etc. ont montré les variations de la teneur en cholestérine au cours du développement.

Un autre problème est celui des variations de l'activité physiologique d'un organe en rapport avec le développement d'un autre organe.

Aron (1922) montre que la glycogenèse hépatique apparaît tardivement pendant le développement fœtal à telle époque qui diffère suivant l'espèce étudiée, mais demeure remarquablement fixe pour une espèce donnée.

Chez le fœtus de Mouton par exemple, Aron trouve les valeurs suivantes pour le glycogène hépatique exprimé en % du poids frais de l'organe :

Age	Glycogène hépatique (Pourcentage)
64 jours	0,15 à 0,13
64 à 126 jours	0,11 à 0,92
126 jours	1,45
126 à 150 jours	2,58 à 1,01

Chez le fœtus de Porc :

Age	Glycogène hépatique (Pourcentage)
70 jours	traces
105 jours	0,045
105 à 120 jours	0,08 à 1,06
123 jours (à terme)	5,00

Dans l'un comme dans l'autre cas, la glycogenèse hépatique apparaît brusquement ; l'établissement de cette fonction ne supprime pas d'ailleurs les fluctuations dues aux échanges avec la mère, mais le taux du glycogène augmente très notablement au-dessus des valeurs primitives.

Claude Bernard a pensé que la fonction glycogénique est mise en train lorsque la cellule hépatique atteint un certain degré de différenciation. Dans le cas du foie fœtal, il semble difficile de montrer une modification cellulaire correspondant à l'apparition de la glycogenèse, et Aron cherche dans une autre direction et pense à l'action d'un autre organe. On sait le rôle que joue chez le Mammifère adulte la glande endocrine du pancréas dans la régulation des fonctions glycogénique et glycémique.

Dans le pancréas embryonnaire du Mouton, Aron montre l'apparition précoce d'îlots endocrines primitifs qu'il dénomme îlots de Laguesse ; les îlots de Langerhans proprement dits, ou de seconde formation, se constitueraient lentement dans le pancréas fœtal, pendant la période où le foie renferme très peu de glycogène ; ensuite, on observe un développement très rapide de ces îlots, véritable « pullulation » contemporaine de l' « explosion » de la glycogenèse hépatique.

Chez le Porc, les îlots de Langerhans apparaissent à la fin de la

gestation ; chez l'Homme, vers le milieu de celle-ci ; et toujours on observe le même parallélisme frappant avec la modification fonctionnelle du foie.

L'action d'un organe sur un autre organe, ou plutôt les interactions entre organes en voie de développement, sont évidentes dans bien des cas ; nous en avons cité quelques exemples dans l'introduc-

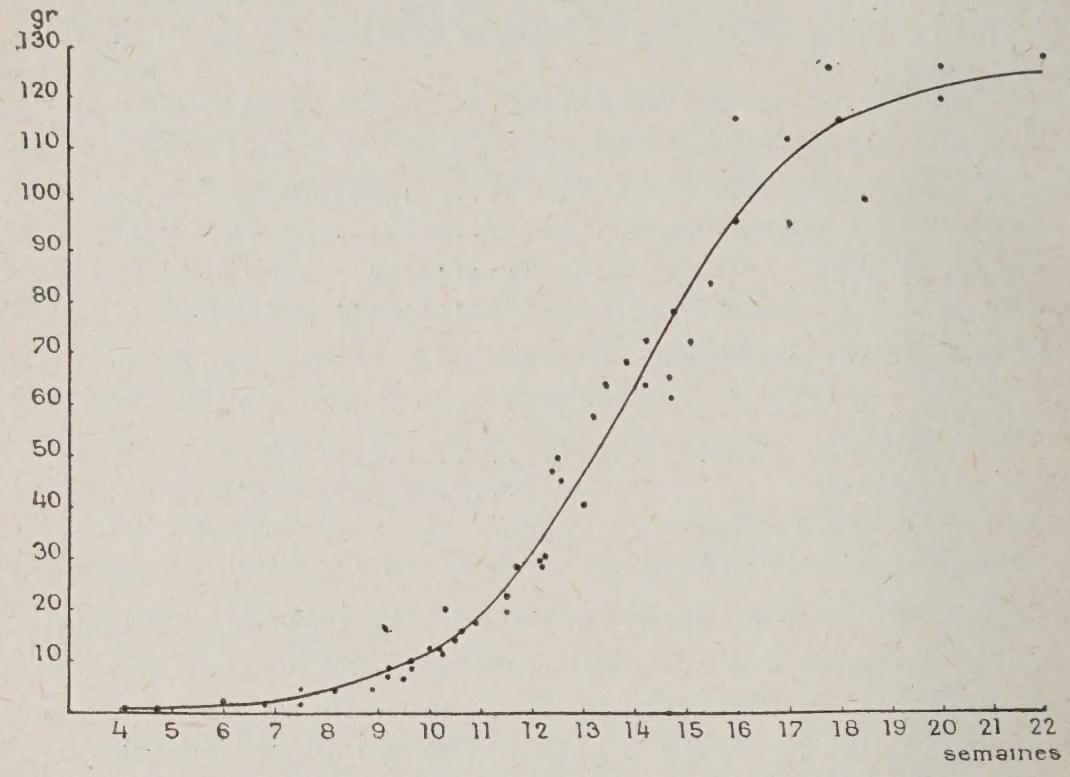


FIG. 44. — Courbe de croissance pondérale du poumon fœtal du Mouton. (FAURÉ-FREMIET et DRAGOIU 1923).

tion, et nous rappellerons ici les nombreuses recherches sur l'influence du corps thyroïde ou plus simplement des sécrétions thyroïdiennes sur le cours de la métamorphose et de la croissance.

Mais quel que soit l'intérêt de ces phénomènes, l'importance de ces interactions d'organe à organe au cours des phénomènes du développement, ils ne nous expliquent pas la cause des variations morphologiques et fonctionnelles de l'organe actif : thyroïde ou tissu endocrine du pancréas par exemple.

On a vu qu'aucun organe n'est indépendant au cours de la croissance de l'ensemble des autres organes coexistants, mais que chacun d'eux cependant présente son évolution propre, son cycle, ou ses cycles de croissance, dont on peut calculer l'équation.

Comment varie au cours de cette croissance propre la composition d'un organe ? L'étude du développement du poumon fœtal apporte quelques précisions sur ce point.

On sait que les poumons se développent aux dépens de la face ventrale de l'intestin céphalique, sous la forme d'une gouttière qui forme bientôt un tube divisé en deux régions : l'une antérieure,

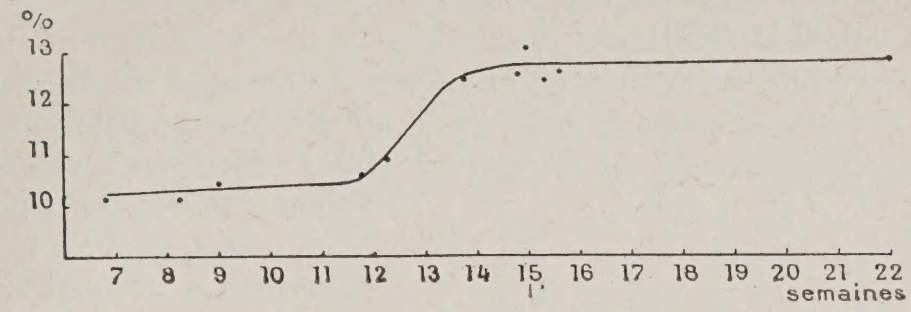


FIG. 45. — Variation en fonction de l'âge du taux de l'azote total (rapporté à 100 grammes de tissu pulmonaire) (FAURÉ-FREMIET et DRAGOIU 1923).

ébauche de la trachée, l'autre postérieure, ou ébauche pulmonaire proprement dite, qui donne bientôt une sorte de dilatation bilobée.

Les deux sacs pulmonaires primitifs sont situés de part et d'autre de la ligne médiane et leur ébauche épithéliale est enveloppée d'un

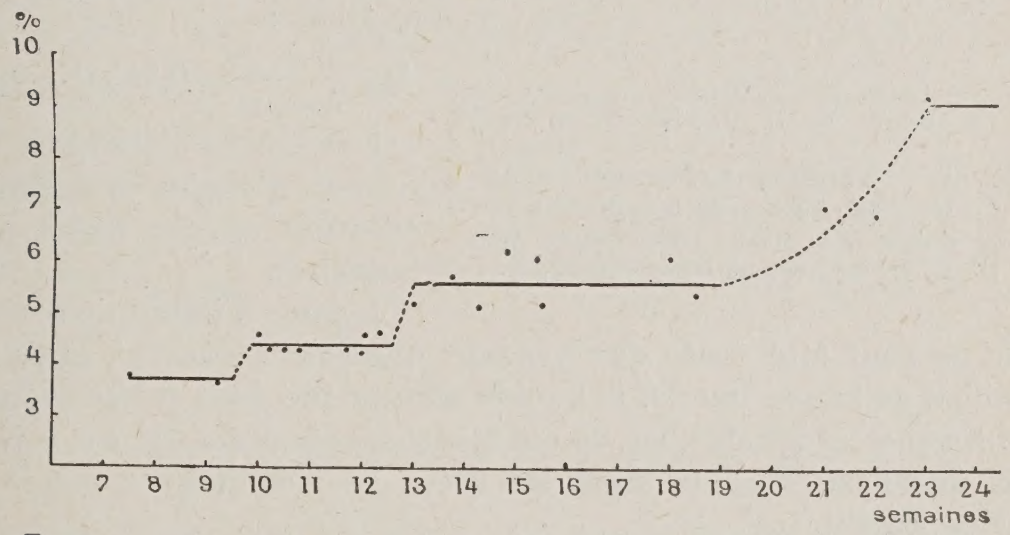


FIG. 46. — Variation en fonction de l'âge du taux des acides gras fixes (rapporté à 100 grammes de tissu pulmonaire sec) (FAURÉ-FREMIET et DRAGOIU 1923).

riche tissu conjonctif embryonnaire provenant du mésoderme de la lame splanchnique.

Le développement et la ramification progressive des tubes épithéliaux conduisent à la formation des vésicules primitives ; la formation de plissements, puis d'évaginations sur les parois de ces vésicules, conduisent à la formation des vésicules pulmonaires définitives, tandis que les canaux bronchiques se précisent et se différencient ; ces transformations sont achevées vers la 10e semaine du développement (fœtus de 20 centimètres environ) ; ensuite les alvéoles se diffé-

rencient et la structure définitive de l'appareil pulmonaire se trouve réalisée vers le milieu de la vie fœtale.

Les transformations chimiques et histologiques concommitantes ont été étudiées par Fauré-Frémiet, Dragoiu et du Vivier de Streel (1920 et 1923).

La courbe de croissance de l'appareil pulmonaire du Mouton est monocyclique pendant la vie intra-utérine. La courbe des valeurs pondérales moyennes obéit exactement à la loi de Robertson et peut s'exprimer, pour l'accroissement de la masse hydratée (fig. 44), par l'équation :

$$\log \frac{x}{A - x} = 0{,}246\,(t - t_1)$$

et pour l'accroissement des substances sèches, par l'équation :

$$\log \frac{x}{A - x} = 0{,}263\,(t - t_1).$$

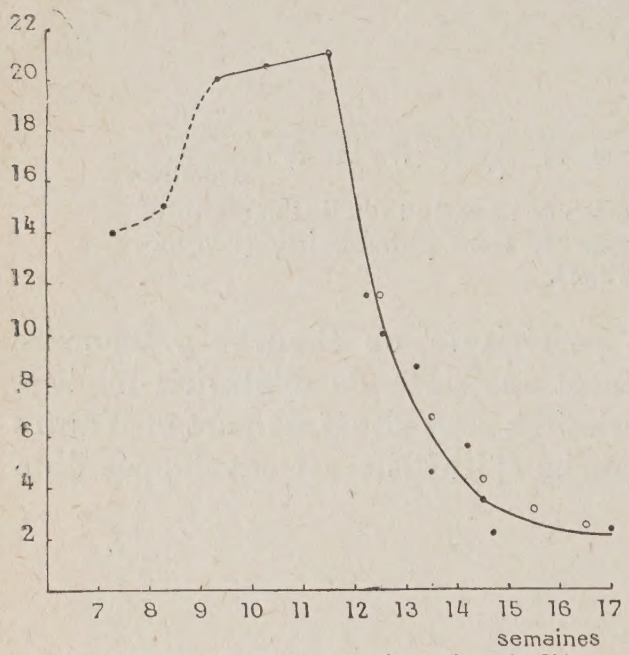


Fig. 47. — Variation en fonction de l'âge du taux du glycogène (rapporté à 100 grammes de tissu pulmonaire sec) (Fauré-Fremiet et Dragoiu 1923).

Examinons d'abord les variations globales de quelques constituants des tissus pulmonaires.

L'eau d'imbibition normale ne peut être dosée que pendant une courte période, car, vers le milieu de la vie fœtale, le liquide amniotique peut pénétrer dans les bronches et les alvéoles, ce qui fausse les résultats. Disons cependant que l'eau diminue dans les tissus pulmonaires au cours du développement.

Les dosages de l'azote total (fig. 45) permettent de calculer la proportion des albuminoïdes qui constitueraient 63,7 % du poids sec à la 7e semaine et 85,6 % à la naissance.

Les substances grasses et lipoïdes augmentent dans les tissus pulmonaires et passent de 5,3 % à la 7e semaine, à 14,53 % à la naissance ; les acides gras fixes passent respectivement (fig. 46) de 3,6 % à 7 % à la naissance et 9 % après la naissance.

Le taux de la cholestérine est approximativement constant ; les phosphatides varient sensiblement comme les lipoïdes totaux.

Enfin, le glycogène varie quantitativement dans un sens différent, et tombe de 20 % à la 10e semaine à 2,4 % à la 17e semaine (fig. 47).

On remarquera que les variations du taux des constituants énu-

mérés ci-dessus sont compensatrices, c'est-à-dire, ce qui était à prévoir, que la somme des chiffres trouvés est toujours voisine de 100. Cependant le complément nécessaire pour arriver à 100 est relativement fort entre les 7e et 9e semaines, ce qui semble indiquer que l'emploi du coefficient 6,25 pour le calcul des substances protéiques, d'après le chiffre d'azote total, donne un chiffre trop faible à ce stade (1).

Si l'on suit maintenant les variations du taux des constituants tissulaires à des temps aussi rapprochés que possible, de manière

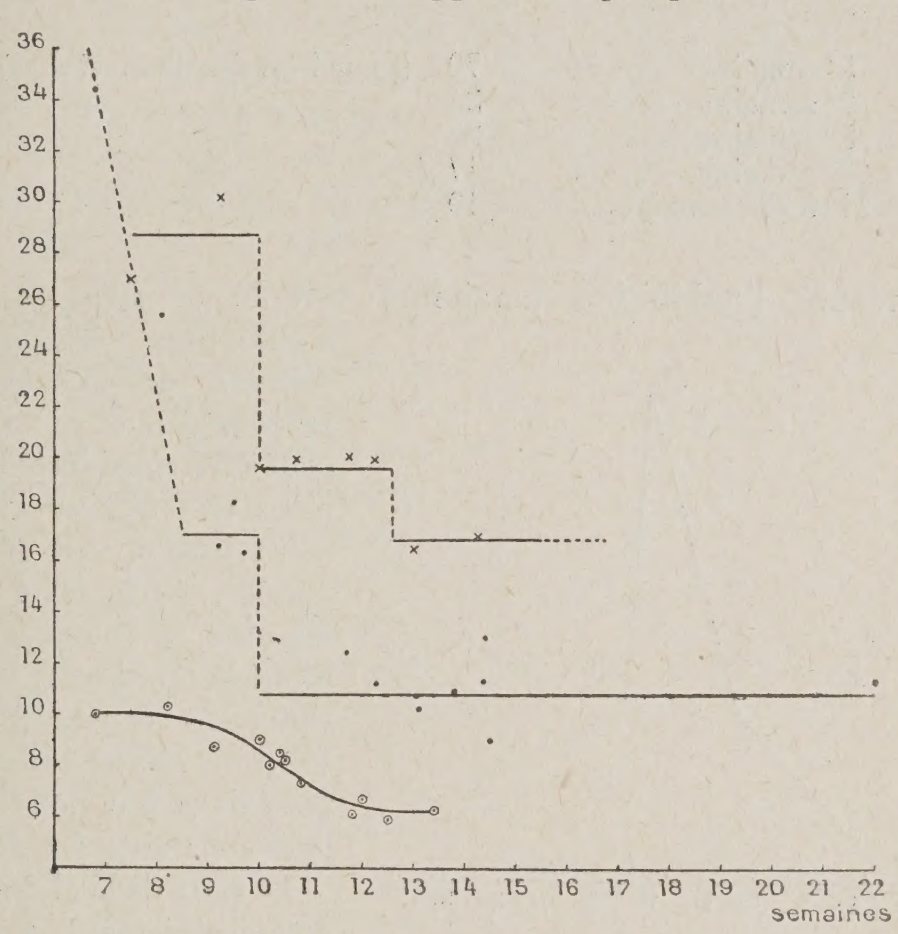


Fig. 48. — Courbe inférieure : Variation en fonction de l'âge de l'eau protoplasmique calculée pour un gramme de substances sèches. — Ligne moyenne : variation de l'imbibition maximum dans l'eau distillée. — Ligne supérieure : variation du rapport $\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}$ (Fauré-Fremiet et Dragoiu 1923).

à pouvoir combiner la courbe de ces variations, on constate que celles-ci sont essentiellement discontinues. Pendant un certain intervalle de temps, la variation est très faible ou nulle et la courbe marquera un palier ; puis brusquement on constate un accroissement ou une

(1) La substance collagène n'a pas encore ses caractères histochimiques définitifs.

diminution marquée des divers constituants, et à cette variation rapide, à cette discontinuité, succède à nouveau une phase de quasi-équilibre entre les constituants chimiques du poumon.

Sans entrer dans le détail de ces variations de composition, nous pouvons en suivre les effets en déterminant les valeurs de l'imbibition maximum dans l'eau distillée des tissus pulmonaires ; les déterminations ont été faites à la température de 18° et les chiffres suivants montrent l'importance des variations enregistrées :

5e semaine.....	70	(pour 1 gr. de subst. sèches)
7e semaine.....	34	—
8e semaine.....	25	—
10e semaine.....	17,1	—
11e à 22e semaine.....	10,9	—

En réalité, l'imbibition maximum vers la 5e semaine représente une véritable dissolution de la substance précollagène et sa valeur en peut être considérée comme fixe ; elle diminue rapidement jusque vers la 8e semaine ; de la 8e à la 10e semaine, la valeur de l'imbibition maximum est sensiblement constante ; à la 11e une chute brusque se produit et une nouvelle valeur constante est atteinte.

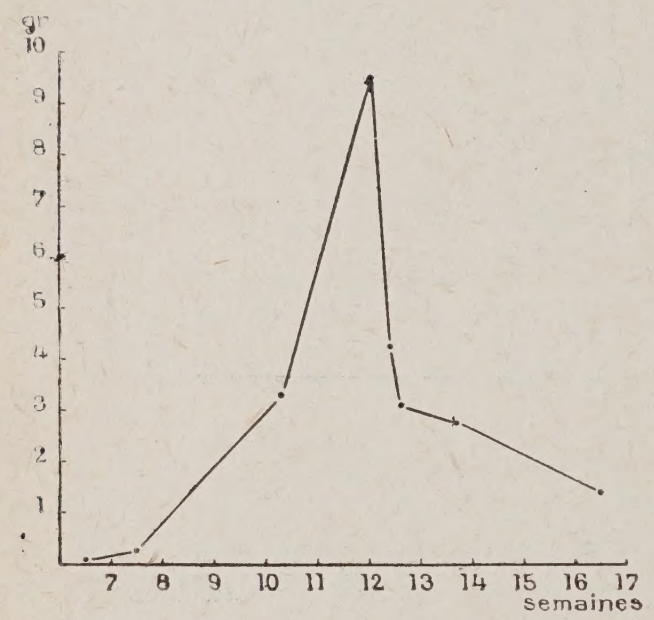


Fig. 49. — Variation en fonction de l'âge de la masse totale du tissu épithélial pulmonaire (Fauré-Fremiet et Dragoiu 1923).

Le taux de la cholestérine est sensiblement constant, avons-nous dit, mais celui des acides gras varie d'une manière nettement discontinue lui aussi (fig. 45) ; le rapport $100 \frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}$ varie donc également d'une manière discontinue. A partir de la 10e semaine, les variations de ce rapport sont sensiblement proportionnelles à celles de l'imbibition maximum, de sorte que la formule de Mayer et Schaeffer : (Voir chapitre Ier et page 149).

$$\text{I M.}\left(\frac{1}{\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}}\right) = \text{K}$$

s'applique, les valeurs trouvées pour K étant les suivantes :

10e semaine	K = 0,56
11e à 13e semaine	K = 0,56
14e à 19e semaine	K = 0,61

L'étude de la composition chimique du poumon au cours de la croissance fœtale peut se résumer de la manière suivante : le taux de chacun des constituants examiné augmente ou diminue de manière variée en fonction du temps ; pendant certaines périodes la variation est très faible, ou *apparemment* nulle ; elle est au contraire importante et rapide à quelques stades ; un de ces stades que l'on peut comparer à une *période critique*, existe à la fin de la 12e et au début de la 13e semaine. On voit donc que, si l'on cherche à relier par un ensemble de *rapports quantitatifs* les valeurs exprimant le taux de toutes les substances étudiées la compositionglobale du tissu pulmonaire n'apparaît jamais au cours de la vie fœtale comme constante. Tout au plus existet-il des périodes de quasi-équilibre séparées par des variations brusques et discontinues.

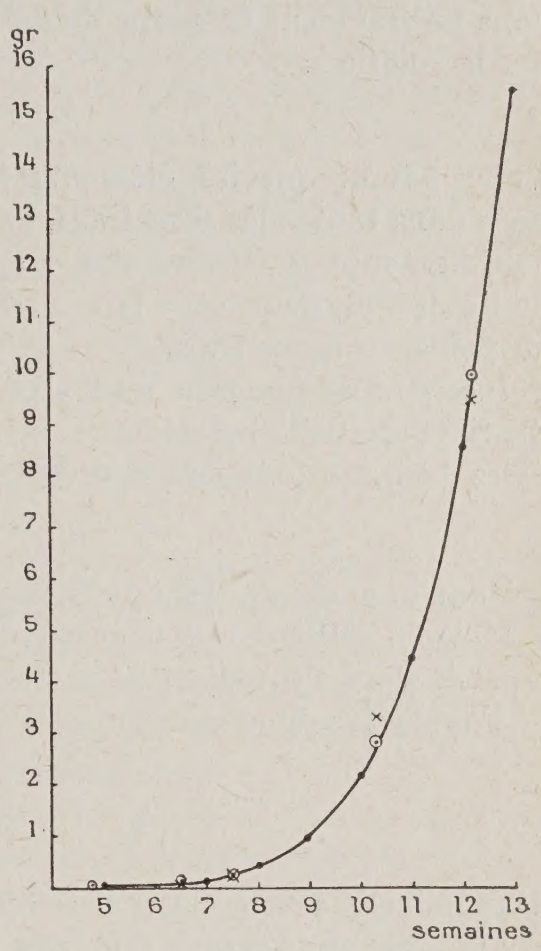


FIG. 50. — Courbe de croissance du tissu épithélial pulmonaire. (FAURÉ-FREMIET et DRAGOIU 1923).

Les tissus en voie de croissance se comportent donc différemment des tissus adultes que MAYER et SCHAEFFER ont pu caractériser par des constantes biochimiques exprimant une sorte d'équilibre.

La cause de ces variations est-elle due aux interactions d'organe à organe ? Est-elle au contraire intrinsèque ? Pas plus que l'organisme total, un organe n'est un système simple ; dans le cas du poumon, nous pouvons *schématiquement* considérer l'organe comme un complexe de deux tissus seulement : le tissu épithélial et le tissu conjonctif. La courbe de croissance du poumon représente la somme algébrique des croissances propres de ces deux tissus, comme les variations de la composition globale représentent la somme algébrique des variations de composition de chacun d'eux. Nous devons donc tenter maintenant

d'étudier l'évolution, la croissance propre, du tissu épithélial et du tissu conjonctif pulmonaire.

Fauré-Fremiet, Dragoiu et du Vivier de Streel ont obtenu des mesures approximatives de la masse épithéliale d'après des mesures de surface effectuées sur des coupes de poumons fœtaux, traités de manière identique, mais d'âge différent.

La surface totale S des éléments épithéliaux étant déterminée dans un fragment de coupe de surface connue, le volume est obtenu par la relation :

$$V = (\sqrt{S})^3$$

en supposant que les éléments épithéliaux sont également distribués dans toutes les directions, ce qui n'est pas tout à fait exact (1).

Si l'on suppose encore que la densité des tissus étudiés est voisine de l'unité, on peut, sans faire une grosse erreur, calculer les volumes en poids de tissus frais.

Inscrites en fonction du temps, les valeurs pondérales successives du tissu épithélial dessinent une courbe ascendante correspondant assez bien, en première approximation, à l'équation :

$$\log x = at + b,$$

x étant le poids de tissu épithélial au temps t.

Mais on obtient une concordance beaucoup plus exacte en introduisant dans l'équation de cette courbe la valeur du poids total P de l'appareil pulmonaire au temps t sous la forme :

$$\sqrt[3]{100\,\frac{x}{P}} = at + b$$

dans laquelle $a = 0{,}595$ et $b = 0{,}525$.

Les valeurs de x sont calculées avec la formule :

$$x = At^3\,P + Bt^2\,P + Ct\,P + DP.$$

Une telle courbe n'exprime nullement un cycle de croissance ; tout au contraire elle marque une tendance à l'accroissement et, de telle manière que le poumon tout entier ne serait plus avant la naissance qu'une masse épithéliale, ce qui est évidemment absurde.

Or, l'étude des valeurs réelles de la masse épithéliale montre un phénomène que les calculs ne permettraient nullement de prévoir : une chute brusque et rapide de cette masse qui commence à la fin

(1) Voir la discussion de cette technique et des résultats obtenus dans le mémoire de ces auteurs, 1923. Benoit (1922) a utilisé une méthode de mesure analogue pour l'étude du tissu interstitiel.

de la 12e semaine et se continue pendant le début de la 13e, diminution très marquée de la quantité absolue du tissu épithélial qui est corroborée par la diminution simultanée du glycogène exclusivement localisé aux éléments de ce tissu.

Quelle est la nature d'une telle régression ? L'étude histologique d'un phénomène aussi rapide est très difficile ; on peut affirmer cependant qu'il coïncide avec une transformation importante des cellules épithéliales primitives qui donnent deux types cellulaires nouveaux, caractéristique de la structure définitive de l'alvéole pulmonaire : 1° la cellule plate anucléée, et 2° la cellule granuleuse étudiée par Gilbert et Jaumier, Guieysse, Granel, Fauré-Fremiet, etc... Chez l'Homme cette transformation histologique se ferait à la fin de la vie fœtale (Cazzaniga 1922), au moment des premières inspirations, tandis que, chez le Mouton, elle aurait lieu sensiblement plut tôt.

La régression quantitative du tissu épithélial ne semble pas modifier la courbe de croissance du poumon total, elle se produit d'ailleurs au moment où le taux de croissance est maximum ; peut-être le développement de la vascularisation capillaire crée-t-il une perturbation compensatrice.

De toute manière, la croissance totale de l'organe peut être considérée, à partir de la 13e semaine, comme presque entièrement due à la croissance du tissu conjonctif et la masse de celui-ci, déterminée grossièrement par la différence P—x varie comme la masse totale de l'organe, suivant une courbe en S que l'équation de Robertson permet de représenter en donnant à K une valeur voisine de 0,232.

On peut estimer les variations de composition de chacun des deux tissus épithélial et conjonctif en se basant sur les remarques suivantes :

1° La masse conjonctive étant de beaucoup la plus importante par rapport à la masse totale de l'organe, les variations de l'imbibition maximum doivent se rapporter plus particulièrement aux variations de ce tissu ;

2° La gélatine de Wahrton doit présenter une composition chimique très voisine de celle du tissu conjonctif et peut servir de témoin ; cette gélatine contient (les vaisseaux étant enlevés) 94 % d'eau, et les matières grasses constituent environ 0,15 % de son poids frais ; son imbibition maximum dans l'eau distillée est très élevée.

La composition du tissu conjonctif doit être très analogue pendant la première période du développement fœtal jusqu'à la 10e semaine.

A ce moment, le taux des acides gras augmente dans l'organe entier, passant de 3,6 % à 4,4 % du poids sec, mais l'imbibition maximum descend et se stabilise à un premier niveau : 17 grammes d'eau pour 1 gramme de substances sèches à la 10e semaine, puis à un second

niveau : 10,9 pour 1 à partir de la 11e, et jusqu'à la naissance (fig. 48, ligne moyenne).

Il est donc très vraisemblable que le tissu conjonctif pulmonaire s'est enrichi en acides gras et que le rapport $\frac{\text{cholestérine}}{\text{acides gras}}$ a diminué chez lui.

En ce qui concerne la composition épithéliale, on doit d'abord remarquer que le glycogène n'existe que dans les cellules épithéliales.

Par rapport au poids frais de la cellule épithéliale primitive, le glycogène formerait :

	%
à la 10e semaine	7,5
11e semaine	7,5
12e semaine	7,8

la teneur en glycogène semble donc constante pendant la période de croissance du tissu épithélial primitif. En ce qui regarde l'eau, on doit remarquer que le taux de ce liquide s'abaisse légèrement dans l'ensemble de l'organe tandis que la quantité relative, le taux de l'épithélium s'accroît sensiblement.

Si l'on attribue 94 % d'eau au tissu conjonctif, vers la 7e semaine, on doit en attribuer environ 66 % au tissu épithélial.

Ultérieurement, la proportion de l'épithélium ayant augmenté et celle du tissu conjonctif ayant diminué, la répartition de l'eau doit être modifiée de ce fait. Si l'hydratation du tissu conjonctif n'a pas varié, celle du tissu épithélial a dû augmenter jusque vers 72 % ; comme il est plus vraisemblable que l'hydratation du tissu conjonctif a diminué, on doit considérer comme un minimum le chiffre de 72 % en ce qui concerne les cellules épithéliales primitives aux environs de la 12e semaine.

Un même raisonnement peut être tenu pour les corps gras ; si l'on attribue au tissu conjonctif vers la 7e semaine la même teneur en corps lipoïdes qu'à la gélatine de Warthon, on trouve que le tissu épithélial doit contenir par rapport à son poids frais la proportion assez élevée de 3,2 % (acides gras + cholestérine). Mais la masse épithéliale croît d'abord plus vite que la masse des acides gras et, au moment de la première augmentation des acides gras, on doit faire la part du tissu conjonctif, *dont l'imbibition maximum a baissé.* Il résulte de ces faits que le taux des lipoïdes doit baisser dans les cellules épithéliales jusqu'aux environs de 1,6 à 2 %.

En résumé, de la 7e semaine jusqu'à la 12e, les cellules épithéliales primitives se *modifieraient progressivement* dans le sens suivant : leur teneur en eau augmenterait, leur teneur en lipoïdes diminuerait, leur teneur en glycogène resterait constante.

Si l'on essaye de faire quelques calculs, on voit, étant donné l'augmentation de la teneur en eau, que les matières sèches de la cellule épithéliale diminuent plus vite que les substances grasses, donc que la masse albuminoïde (cytoplasma + noyau) doit diminuer légèrement.

L'observation cytologique confirme ces résultats, car :

1° Les cellules épithéliales primitives sont toujours riches en glycogène dissous dans leur cytoplasma ;

2° Après la dissolution du glycogène, le cytoplasma de ces cellules présente aux deux premiers stades, après l'action de CrO^3 ou de OsO^4, une trame colorable comme si elle était chargée de lipoïdes, tandis qu'aux stades ultérieurs cette cellule paraît, dans les mêmes conditions, absolument vide ;

3° La relation nucléoplasmique volumétrique diminue d'abord, puis augmente vers la 12e semaine. Le volume cellulaire diminue progressivement, les divisions ont donc lieu avant que la masse cellulaire ou la masse nucléaire n'aient exactement doublé.

Au cours de cette période de croissance et de transformation progressive de l'épithélium primitif, on observe la différenciation des épithéliums bronchiques, dans lesquels apparaissent les cellules à plateaux ciliés, et les cellules à mucus ; les unes comme les autres ne renferment plus trace de glycogène, lorsqu'elles sont transformées.

Au contraire, dans le parenchyme pulmonaire, la cellule épithéliale primitive peut subir les variations de taille et de composition que nous avons indiquées ; mais sa structure reste sensiblement la même ; la transformation apparaît brusquement au stade critique dont nous avons déjà parlé.

La transformation des cellules primitives en plaques anucléées se fait suivant un mécanisme difficile à suivre et encore mal connu ; les cellules cubiques restantes apparaissent alors de place en place à la surface interne de l'alvéole, avec leur cytoplasma encore chargé de glycogène. Mais rapidement ces cellules perdent leur glycogène et se chargent de granulations graisseuses ; en même temps, une propriété très spéciale apparaît : celle de donner des sulfures métalliques en présence de certains sels et de formol (1), comme si cette cellule contenait un corps sulfuré, voisin peut-être du « Glutathion » et décomposable en milieu réducteur.

Le calcul de la répartition montre que si la part du tissu conjonctif ne s'accroît pas à ce stade, la cellule granuleuse doit contenir ± 13 % de son poids frais de matières grasses, soit un peu plus de 20 % du poids sec, proportion comparable à celle des œufs à vitellus abondant, et chargés d'inclusions graisseuses.

---

(1) Voir Fauré-Fremiet et Dragoiu (1923), Cazzaniga (1922).

La transformation cellule primitive → cellule granuleuse s'effectue certainement en moins de 2 à 3 jours ; il faut insister sur le fait que la cellule granuleuse est un élément définitif, qui conservera ses caractères dans le poumon de l'animal adulte ; c'est un élément mobile, qui peut jouer le rôle de phagocyte (voir Guieysse 1923) ; au cours des processus inflammatoires, elle peut prendre un aspect en quelque sorte *indifférent* ; mais celui-ci ne peut *jamais être considéré comme un retour à l'état embryonnaire* et la transformation qui vient d'être décrite est *irréversible.*

La cellule épithéliale s'est modifiée graduellement, peut-être par le jeu de causes intrinsèques (1), dont nous verrons la possibilité au cours du chapitre suivant, pendant la 1re partie de la vie fœtale. Le tissu conjonctif s'est modifié lui aussi, et la composition globale du « milieu » pulmonaire a varié de ce double fait.

Il importe de remarquer que la transformation brusque de la cellule primitive en cellule granuleuse ne représente pas du tout la réalisation de l'*état final* des transformations subies par la première ; elle se fait dans une direction tout à fait différente comme si l'évolution de cette cellule avait subi un brusque changement d'orientation. Et l'on conçoit que cette transformation soit *irréversible*, non seulement pour cette première raison, mais encore et surtout parce que, au moment où la transformation a lieu, la composition de l'organe a changé, comme celle d'ailleurs de l'individu tout entier.

Nous pourrons donc conclure qu'une espèce cellulaire se modifie lentement au cours du développement fœtal, et que le cours de ces variations lentes peut être interrompu par une variation brusque et irréversible ; la variation lente peut avoir, nous y reviendrons, son origine dans la cellule elle-même ; mais pendant la croissance d'un organisme, aucun élément n'est isolé, et les relations d'interdépendance se font sentir entre un grand nombre de systèmes co-variants.

C'est pourquoi Jackson (1909) a pu dire que la taille d'un organe, comme sa position, sa forme, sa structure, se rattachent à la fois au présent, au passé, et au futur.

6. **Loi de croissance des colonies d'Infusoires.** — Parmi les Infusoires ciliés de la famille des Vorticellides, les *Epistylis*, les *Opercularia*, les *Zoothamnium* et les *Carchesium* forment des colonies dont la croissance *n'est jamais* indéfinie. Chacune de ces colonies se comporte donc, dans une certaine mesure, comme un organisme méta-

(1) Stewart (1922) étudie chez le Rat la métamorphose graisseuse de la cellule épithéliale vers le 20e jour de la vie fœtale, et pense que l'inspiration du liquide amniotique peut expliquer le gonflement préalable de cette cellule ; chez le Mouton la transformation épithétiale précoce semble précéder la pénétration du liquide amniotique.

zoaire très peu différencié. Cependant les unités cellulaires, c'est-à-dire les Infusoires, dont l'ensemble constitue ces colonies ne présentent, sauf dans le cas des *Zoothamnium*, aucun rapport de continuité protoplasmique. Ils demeurent unis par la masse inerte d'un pédicule dont chaque branche est sécrétée par un individu.

D'autre part les Vorticellides coloniales habitent généralement des eaux courantes ou bien se fixent sur des organismes mobiles ;

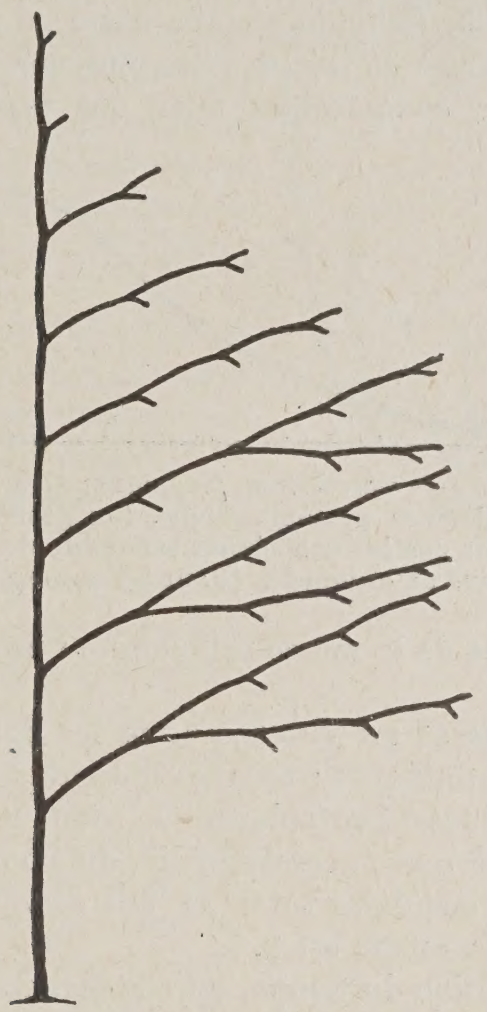


FIG. 51. — *Epistylis arenicolæ* (FAURÉ-FREMIET 1922). Schéma d'une colonie.

on peut donc admettre que la masse totale des individus est très petite par rapport à celle du milieu liquide constamment renouvelé.

Dans ces conditions, il semble que les possibilités d'interactions cellulaires soient réduites à un minimum tel qu'elles puissent être négligées, et il devient particulièrement intéressant de déterminer la forme de la croissance limitée de ces colonies (FAURÉ-FREMIET 1922).

Le simple examen d'une colonie de Vorticellide et des ramifications dichotomiques de son pédicule nous donne la généalogie exacte

de chaque individu, de chaque unité cellulaire de génération n et nous permet encore de suivre avec la même précision la descendance de chaque individu ; en d'autres termes, dans une colonie de Vorticellides, le seul examen des ramifications dichotomiques du pédicule commun permet de déterminer le nombre exact des divisions cellulaires, ou, ce qui revient au même, le nombre exact des individus formés par bipartition à chaque génération.

Si nous prenons un *individu* comme unité de poids, et une *génération* comme une unité de temps, nous pouvons construire avec des valeurs numériques comparables pour des espèces différentes la

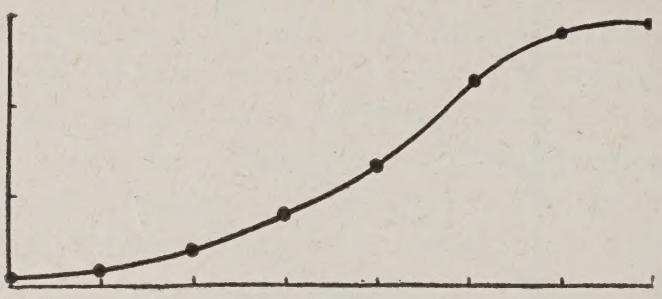


FIG. 52. — *Carchesium polypinum* Courbe de croissance protoplasmique. Les générations sont portées enabcisses, le nombre des individus en ordonnées (FAURÉ-FREMIET 1922).

courbe de croissance de la masse cellulaire ou protoplasmique totale de la colonie.

Chez les *Epistylis* et les *Zoothamnium* les colonies sont parfois régulièrement dichotomiques ; tous les individus se divisent donc simultanément et la masse protoplasmique totale est doublée à chaque génération, de sorte que l'accroissement du nombre total des individus ou du poids cellulaire total se fait suivant une progression géométrique dont la raison est 2.

Considéré en fonction du temps, cet accroissement peut être représenté par une courbe logarithmique telle que $\log x = at - b$.

Un tel mode de croissance est en *apparence* illimité ; tel n'est plus le cas lorsque les divisions dichotomiques sont irrégulières.

Chez certaines espèces, *Epistylis arenicolæ*, *Ep. Perrieri*, *Zoothamnium arbuscula*, *Carchesium polypinum*, etc., deux individus issus d'une même bipartition ne semblent pas posséder le même pouvoir de multiplication, soit que leurs bipartitions ultérieures ne soient pas simultanées, soit encore que les bipartitions successives donnent naissance à une lignée principale et à des rameaux ou branches latérales, sur lesquels les bipartitions se font de plus en plus rares à mesure que la colonie s'accroît.

Dans ces différents cas, la courbe de croissance de la masse proto-

plasmique totale en fonction du nombre des générations est une courbe en S exprimant un cycle de croissance, et relevant de l'équation de Robertson :

$$\log \frac{x}{A - x} = K\,(t - t_1).$$

Remarquons maintenant que dans le cas des colonies régulièrement dichotomiques, l'apparence d'un accroissement indéfini (contraire aux faits puisque ces colonies sont toujours limitées), s'évanouirait si, au lieu de mesurer la croissance en fonction du nombre des générations, on la mesurait en fonction du temps.

Fig. 53. — *Epistylis Perrieri.* Schéma d'une colonie (Fauré-Fremiet 1922).

On doit alors conclure que le « pouvoir de multiplication » des individus formés par bipartitions successives diminue progressivement jusqu'à s'éteindre, et cela d'une manière qui peut être inégale pour deux cellules-sœurs directement issues d'une même division.

Mais la masse totale d'une colonie de Vorticellides n'est pas seulement constituée par la somme des individus cellulaires, ou corps protoplasmiques. Le pédicule colonial est constitué, en tout ou en partie, par une substance inerte de nature chitineuse ou albuminoïde sécrétée au contact de la partie inférieure du corps par l'intermédiaire d'une bordure en brosse, la *scopula*. Or cette sécrétion n'est pas quantitativement proportionnelle au nombre des individus formés par les bipartitions successives. L'observation montre en effet que la densité de la substance pédonculaire peut diminuer à chaque génération, les parties basales et les premières ramifications du pédicule colonial étant beaucoup plus consistantes que les ramifications terminales.

De même, le diamètre des rameaux de nouvelles générations peut être inférieur à celui des rameaux de la génération précédente.

Enfin, les ramifications dichotomiques peuvent être inégales, deux individus cellulaires issus d'une même bipartition sécrétant dans ce

cas des rameaux de longueur très différente, ou possédant de ce fait un pouvoir sécréteur différent.

La sécrétion des substances pédonculaires obéit donc, elle aussi, à une loi cyclique. Chez quelques espèces, *Campanella (Epistylis) umbellaria* en particulier, l'étude cytologique montre un fait curieux ; lorsqu'un individu cellulaire se prépare à quitter la colonie pour se fixer ailleurs et fonder une colonie nouvelle, on voit apparaître dans la région inférieure du corps des granulations colorables par la

Fig. 54. — *Epistylis Perrieri.* Croissance protoplasmique (Fauré-Fremiet 1922).

safranine, et se présentant comme de véritables grains de sécrétion. Il est bien évident que ces grains n'ont aucun rapport direct avec la substance qui forme le pédicule colonial, mais on peut les considérer suivant le schéma généralement adopté au point de vue cytologique pour les cellules glandulaires, comme représentant une substance active : ferment ou proferment.

Si nous admettons cette hypothèse, en rapprochant l'existence de ces granulations du fait que l'Infusoire qui les porte va sécréter la base toujours massive et très développée d'un pédicule colonial, nous devons remarquer que cette substance active, quelle qu'elle soit, existe en quantité finie, et ne se reconstitue pas chez les Infu-

soires issus par bipartition de l'individu fondateur de la colonie. En d'autres termes, cet individu initial se comporte comme une cellule glandulaire au moment de la mise en charge, et si l'on supposait que la substance active ne se détruise pas, on devrait admettre qu'à chaque bipartition cette substance se *dilue* dans une masse protoplasmique croissante.

Soit Q_0 la quantité finie initiale de cette substance active, la masse Q possédée par un individu de génération n sera donnée par la relation

$$\log Q = Q_0 - Kn$$

montrant qu'à chaque génération la concentration de Q diminue par rapport à la masse protoplasmique totale.

Fig. 55. — *Opercularia racemosa.* Schéma d'un rameau (Fauré-Fremiet 1922).

Développons notre hypothèse : la quantité de substance pédiculaire formée dépendra sans doute de la concentration de la substance active par rapport à la masse protoplasmique, mais aussi de la quantité des substances transformables disponibles. On peut supposer que celle-ci est proportionnelle à la quantité des aliments ingérés, c'est-à-dire à la masse des individus constituant la colonie ; elle doit donc varier, à l'inverse de la concentration de la substance active, sous la forme suivante :

$$\log Q = Kn - b$$

l'accroissement de la masse du pédicule total dépend alors de deux grandeurs dont l'une croît tandis que l'autre décroît.

Si la substance active est d'abord en excès, la substance formée (pédoncule) augmentera proportionnellement à la substance transformable ; mais à partir d'une certaine concentration minimum de la substance active, l'augmentation de la substance formée diminuera proportionnellement à cette concentration, et c'est la substance transformable qui se trouvera en excès ; le taux de l'accroissement variera donc suivant une courbe en cloche et les valeurs successives de la

masse totale figurées en fonction du temps donneront une courbe en S.

Cette interprétation du cycle de croissance est seulement un peu plus complexe que celle proposée par Robertson avec le schéma d'une réaction monomoléculaire et autocatalytique; il est évident d'autre part qu'elle peut aussi bien s'appliquer à la croissance protoplasmique, en supposant que la synthèse du protoplasma s'effectue aux dépens de substances transformables, et à l'aide de substances actives qui ne sont pas nécessairement figurées.

Brachet (1922 et 1923) s'est servi d'une hypothèse analogue pour exposer le problème des localisations germinales, en supposant, aux premiers stades du développement de l'œuf, l'existence en quantité *finie* de substances jouant un rôle morphogénique. Dans un ordre d'idée analogue Brody et Ragsdale (1924) concluent de l'étude des courbes totales de croissance que celles-ci sont « en accord avec l'hypothèse présumant que chaque animal commence sa vie avec une dotation définie de substances limitées nécessaires pour les processus de croissance, et que cette dotation limitée s'épuise d'une façon constante et suivie ».

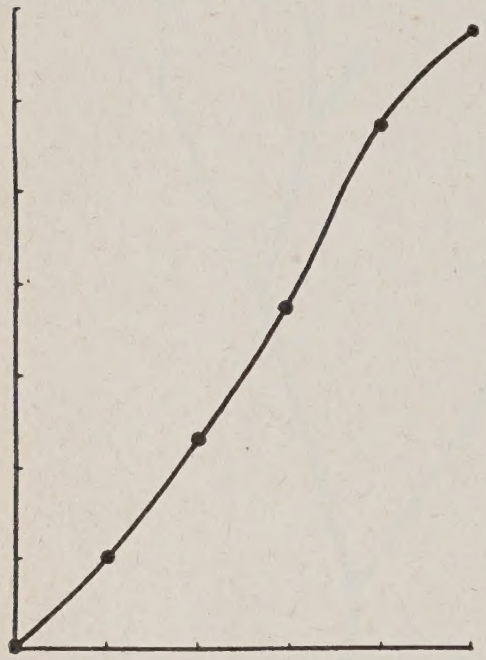


Fig. 56. — *Opercularia racemosa.* Croissance de la masse pédonculaire (Fauré-Fremiet 1922).

Dans le cas du cycle de croissance des colonies de Vorticellides, il reste à expliquer pourquoi la formation de la « substance active » est un phénomène essentiellement discontinu; en réalité, cette formation discontinue correspond à un ensemble de transformations subies par quelques individus cellulaires qui deviennent des individus migrateurs, et cela revient à dire que, au cours d'un cycle de croissance, le travail cellulaire entraîne d'abord une sorte de dégradation pendant laquelle la quantité initiale Q_0 des substances actives (considérées dans leur ensemble) se trouve progressivement diluée ou utilisée; à la suite de cette période, le travail cellulaire déterminerait une récupération de cette quantité.

Ce phénomène discontinu ne peut-il être comparé, dans une certaine mesure, à la suite des modifications lentes puis brusques observées pour la cellule épithéliale du poumon en voie de développement ?

L'individu migrateur doit être considéré comme présentant une composition chimique caractéristique de l'état initial, mais au cours

des bipartitions successives comme pendant la période de multiplication de l'épithélium pulmonaire, cette composition varierait lentement et progressivement.

Mais nous avons déjà fait l'hypothèse que ces variations lentes de l'état interne de la cellule ne sont compatibles avec son fonctionnement que si elles restent comprises entre certaines limites ; la vie cellulaire normale ne serait possible, en d'autres termes, que pour une série d'états d'équilibres compris entre l'état initial et un état ultérieur déterminé. Ce qui caractériserait la fermeture du cycle de croissance ou, ce qui revient au même, le début d'un cycle nouveau, serait le retour à l'état initial ; mais cette transformation qui est impossible dans le cas de l'épithélium pulmonaire *parce que le milieu total a varié* et que, de ce fait, le retour à l'état embryonnaire est devenu irréalisable, demeure possible pour une cellule de Vorticellide coloniale parce que le milieu reste constant.

Nous supposerons donc que lorsque les modifications lentes caractéristiques du travail de croissance ou de multiplication auront atteint une valeur limite, elles déclancheront un mécanisme nouveau ou travail de récupération, entraînant le retour à l'état initial ; nous aurons d'ailleurs à revenir sur ce point dans le chapitre suivant.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V

Adamoff, 1905. Ein Beitrag zur Physiologie des Glycogens (*Zeit. f. Biol.*, Bd. XLVI).

Ahlfeld, 1871. Bestimmung der Grösse und des Alters der Frucht von der Geburt (*Arch. f. Gynäkol.*, Bd. XXIX, p. 353).

Amar, 1918. Loi de la cicatrisation des plaies (*C. R. Ac. Sc.*, mars).

Aron (H.), 1913. Biochemie des Wachstums des Menschen und der höheren Tiere in Oppenheimer (*Handbuch. der Biochemie*).

Aron (M.), 1920. De la concomitance entre l'apparition des îlots de Langerhans fonctionnels chez l'embryon et l'établissement de la fonction glycogénique du foie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1447).

Aron (M.), 1921. Sur le développement des voies biliaires intrahépatiques et l'établissement de la fonction biliaire du foie (*C. R. Soc. Biol.*, 10 juin, t. LXXXV, p. 110).

Aron (M.), 1922. L'évolution morphologique et fonctionnelle des îlots endocrines du pancréas embryonnaire (*Arch. Anat. Hist. et Embr.*, t. II, p. 69, 113).

Aron (M.), 1922. Le glycogène du foie embryonnaire. Déterminisme de sa formation (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, p. 209).

Balthazard et Dervieux, 1921. Etudes anthropologiques sur le fœtus humain (*Ann. de Med. légale*, 5e congrès de méd. lég.).

Beddard (F. E.), 1903. Normally unequal Growth as a possible cause of Death (*Nature*, vol. LXXVIII).

Benedict and Talbot, 1911. Metabolism and growth from Birth to puberty (*Carnegie Inst. publ.*, nº 302).

Benoit (J.), 1922. Sur une méthode permettant de mesurer la masse absolue du tissu interstitiel testiculaire (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, nº 39, p. 1385).

Bessesen and Carlson, 1923. Post-natal growth in weigth of the body and of the various organs in the Guinea-pig (*Amer. journ. of Anat.*, vol. XXXI).

Boyd, 1861. Tables of weights of the Human Body (*Phil. Trans.*, vol. CLI).

Brachet, 1922. Sur les propriétés des localisations germinales de l'œuf (*C. R. Ac. Sc.* Paris, t. CLXXV, p. 512).

Brachet, 1923. Génération et fécondation. Rapport présenté à la Soc. de Biol., 75e anniversaire.

Brody (S.), 1921. The rate of growth of the domestic Fowl (*Journ. of Gen. Phys.*, vol. III, p. 765).

Brody and Ragsdale, 1921. The rate of growth of the dairy Cow. Extra-uterine growth in weight (*Journ. of. Gen. Phys.*, vol. III, p. 623).

Brody and Ragsdale, 1922. The equivalence of age in animals (*Journ. of Gen. Phys.*, vol. V, p. 205, 214).

Brody (S.), Henderson, Pearl and Kempfster, 1923. The rate of senescence of the domestic Fowl as measured by the decline in egg production with age (*Journ. Gen. Phys.*, vol. VI, p. 41).

Brody, Ragsdale and Turner, 1923. The rate of growth of the dairy Cow. III. The relation between the rate of growth in weight and increase of milk secretion with age (*Journ. Gen. Phys.*, vol. VI, p. 21).

Brody, Ragsdale and Turner, 1923. The rate of growth of the dairy Cow. IV. Growth and senescence as measured by the rise and fall of milk secretion with age (*Journ. Gen. Phys.*, vol. VI, p. 31).

Brody, Ragsdale and Turner, 1923. Growth in weight after the age of two years (*Journ. Gen. Phys.*, vol. V, nº 4, p. 445).

Brody and Ragsdale, 1924. The rate of growth of the dairy Cow. V. Extra-uterine growth in liver dimensions (*Journ. Gen. Physiol.*, vol. VI, p. 328).

Bujard (E.), 1914. Remarques sur le mécanisme du modelage des embryons humains (jusqu'à 6 à 7 mm. de longueur). (*Anat. und Entwickl. Monographien.* Heft III, Engelman édit., 96 p., Leipzig et Berlin.)

Bullock and Cramer, 1913. Contributions to the biochemistry of growth. On the lipoid, of transplantable tumors of the Mouse and the Rat (*Roy. Soc. Proc.*, B. 594, p. 236).

Burian and Schur, 1987. Ueber Nukleinbildung im Säugetier Organismus (*Zeitschr. f. Phys. Chem.*, t. XXIII, p. 55).

Carrel, 1921. Cicatrisation of wounds. XII. Factors initiating regeneration (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, p. 425).

Carrel et Dehelly, 1917. *Le traitement des plaies infectées* (Masson, collection horizon).

Carrel and Hartmann, 1916. Cicatrisation of wounds. I. The relation between the size of a wound and the rate its cicatrization (*Journ. Exp. Med.*).

Carrel and Lecomte du Noüy, 1921. Cicatrisation of wounds. XI. Periode latente (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, p. 339).

Castaldi, 1922. Accrescimento delle sostanze corticale e midollare della giandola surrenale e loro rapporti colorimetrici (*Arch. Ital. di Fisiologia*, vol. XX, fasc. 1, p. 33).

Cazzaniga, 1922. Gli indici ponderali dei surreni in funzione della lunghezza e del peso del prodotto del concepimento (*Lo Sperimentale. Arch. di Biol. normale e patol.*, t. LXXVI).

Cazzaniga, 1922. Sulle moderne direttive di accermento integrale dei valori di vitalità. (*Arch. di Biologia normale e patol.*, vol LXXVI, p. 33.)

Chisolm, 1911. On the size and growth of the blood in tame Rats (*Quart. Journ. of Exp. Phys.*, vol. IV, p. 207, 229).

Chodat, 1911. *Principes de Botanique* (2e édit., Paris, Baillère et Genève, Georg, édit.).

Chodat et Monnier, 1913. Recherches sur l'augmentation en poids des Plantes (*Arch. des Sc. Phys. et Nat.*, t. XXXIII, p. 101).

Cotronel, 1914. Première contribution expérimentale à l'étude des rapports des organes dans la croissance et dans la métamorphose des Amphibies anoures. L'influence de la nutrition avec de la thyroïde de Mammifères (*Arch. Ital. de Biol.*, t. LXI, p. 305).

Cramer et Pringle, 1910. Contributions to the bio-chemistry of growth. The total nitrogen metabolism of Rats bearing malignant new growths (*Roy. Soc. Proc.*, Bd., DLVI, p. 307).

Cramer et Pringle, 1910. Contribution to the bio-chemistry of growth. Distribution of nitrogenous substances in tumors and somatic tissues (*Roy. Soc. Proc.*, Vol. DLVI, p. 315).

Daffner, 1902. *Das Wachstum des Menschen* (Leipzig).

D'Arcy Thompson, 1917. *Growth and Form* (Cambridge Univ. Press.).

Delbet et Fiessinger, 1918. Biologie de la plaie de guerre (*Ann. de la clinique chirurg. du Prof. Pierre Delbet*).

Dhere et Lapicque, 1898. Sur le rapport entre la grandeur du corps et le développement de l'encéphale (*Arch. Phys.*, t. X).

Donaldson, 1906. A comparison of the white Rat with in respect to the growth of the entire body (*Boas Univ.*, t. V, p. 5, 26, Stechert et Cie, N.-Y.).

Donaldson, 1908. The nervous system of the american Leopard Frog *Rana pipiens*, compared with that of the european Frogs, *Rana esculenta* and *temporaria (Fusca)* (*Journ. comp. Neur. and Phys.*, vol. XVIII).

Donaldson, 1912. An anatomical analysis of growth (*Trans.* 15e *Int. Cong. Hygiene and Demogr. Wash.* D. C., p. 23, 28 septembre).

Donaldson, 1915. The Rat : reference tables and data for the albino Rat and the norway Rat (*Mem. of the Wistar Inst. of Anat. and. Biol.*, no 6, Philadelfia).

Donaldson and Shoemaker, 1900. Observations on the weight and length of the central Nervous System and of the legs in Frogs of different sizes (*Rana virescens*, *brachycephala* Cope, *pipiens* Schreber) (*Journ. comp. Neur.*, vol. X).

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1920. Histogenèse et époque d'apparition des différents tissus pulmonaires chez le Mouton (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 134.)

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1920. Développement des canaux aériens et histogenèse de l'épithélium pulmonaire chez le Mouton (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1617).

Dubois, 1898. Ueber die Abhändigkeit des Hirngewichtes von der Körpergrosse, beim Menschen (*Arch. f. Anthr.*, Bd. XXV).

Dum (E.), 1908. A study in the gain in weight for the light and heavy individuals of a single group of albino Rats (*Proc. Assoc. Amer. Anat. Rec.*, vol. II, p. 109).

Duvoir, 1922. La détermination de l'âge du fœtus (*La Médecine*, vol. III, no 7).

Enriques, 1909. Wachstum und seine analytische Darstellung (*Biochem. Centralb.*, Bd. XXIX, p. 331, 352).

Faucon, 1897. Pesées et mensurations fœtales à différents âges de la grossesse (*Thèse*, Paris).

Fauré-Fremiet et Jacob, 1917. Tumeurs consécutives à l'injection d'huile camphrée préparée avec de l'huile de vaseline (vaselinomes) (*Revue de Chirurgie*, 36e année, t. II, p. 15).

Fauré-Fremiet et Vlès, 1919. Les lois de la cicatrisation des plaies sont-elles réductibles aux lois générales de croissance des organismes ? (*C. R. Ac. Sc.*, Bd. CLXVIII. p. 363).

Fauré-Fremiet et Vlès, 1919. Revue de nos connaissances sur les lois mathématiques de la cicatrisation des plaies (*Ann. Biol.*).

Fauré-Fremiet, Dragoiu et du Vivier de Streel, 1920. La croissance du poumon fœtal chez le Mouton et les variations concomitantes de sa composition (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 275, juillet).

Fauré-Fremiet, Dragoiu et du Vivier de Streel, 1920. La différenciation histochimique de l'épithélium pulmonaire fœtal du Mouton (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXI, p. 368, août).

Fauré-Fremiet, 1920. La cellule granuleuse du poumon (*C. R. Soc. Biol.*).

Fauré-Fremiet, J. Dragoiu et du Vivier de Streel, 1920. Sur une réaction microchimique de la cellule épithéliale pulmonaire (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. II, n° 3).

Fauré-Fremiet, 1920. Action de différents composés chimiques sur la cellule pulmonaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1344).

Fauré-Fremiet, 1921. Lois de croissance des tissus constituant le poumon fœtal du Mouton (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIII, p. 737).

Fauré-Fremiet, 1922. Le cycle de croissance des colonies de Vorticellides (*Bull. Biol. France et Belg.*, t. LVI, fasc. 3).

Fauré-Fremiet et Dragoiu, 1923. Caractérisation microchimique d'un composé sulfuré dans la cellule épithéliale granuleuse du poumon (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 304).

Fauré-Fremiet et Dragoiu, 1923. Le développement du poumon fœtal chez le Mouton. (*Arch. d'anatom. microsc.* t. XIX, p. 411-474).

Fehling, 1877. Beiträge zur Physiologie des Placentären Stoffverkehres (*Arch. f. Gynäkol.*, Bd. XI).

Ferry (E.), 1913. The rate of growth to the albino Rat (*Anat. Record*, vol. VII, p. 433).

Friedenthal, 1909. Das Wachstum des Körpergewichtes... in verschiedenen Lebensältern (*Zeitschr. f. Allg. Phys.*, Bd. IX, p. 487).

Friedenthal, 1914. *Allgemeine und spezielle Physiologie des Menschenwachstums* (Springer, Berlin, 1914).

Fulton, 1901. Rate of Growth of Sea Fishes. (*Fishery Board for Scotland Ann. Rept.*, t. XX, p. 3).

Givens et Macy, 1922. La teneur en calcium et en magnésium du fœtus humain (*Journ. Biol. Chem.*, t. L, *Proc. Am. Soc. Biol. Chem.*, t. XXXIV).

Glaser, 1914. The water content of the embryonic nervous system (*Science*, t. XXXIX, p. 730, 31).

Griswold, 1915. A study of the effect of the periods of gestation and lactation upon growth and composition of swin (*Thèse*, Columbia).

Guieysse-Pellissier, 1923. Recherches expérimentales sur le poumon (*Arch. Anat. Micr.*, t. XIX, p. 159, 210).

Gurlt, 1847. *Lehrbuch der Vergleichenden Physiologie der Haus Säugetiere* (Berlin).

Harris et Reed, 1921. La corrélation intrapériodique dans l'analyse de la croissance (*Biol. Bull.*, t. XL, p. 243, 248).

Hartmann (A.), 1916. *Au sujet de certaines lois de la cicatrisation des plaies* (*Thèse*, Paris, Steinheil édit).

Hasselbach, 1900. Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos (*Skand. Arch. f. Phys.*, Bd. X, p. 353, 402).

Hatai, 1909. Note on the formulas used for calculating the weight of the brain in the albino Rat (*Journ. Comp. Neurol*, vol. XIX, p. 169).

Hatai, 1911. An interpretation of growth curves from a dynamical stand point (*Anat. Rec.*, vol. V, p. 373).

Hatai, 1913. On the weights of the abdominal and the thorax viscera, the sex gland, ductless gland, and the eye balls of the albino Rat according to body weight (*Amer. Journ. of Anat.*, vol. XV, p. 87).

Henning, 1879, Die Wachstumsverhältnisse der Frucht und ihre wichtigsten Organe, etc. (*Arch. f. Gynäkol.*).

His, 1874. *Unsere Körperform* (Leipzig).

Hoskins, 1916. The growth of the body and organs of the albino Rat as affected by feeding various ductless glands. (Thyroid, Thymus, Hypophysis and Pineal (*Journ. exp. Zool.*, vol. XXI, p. 295).

Jackson, 1909. On the prenatal growth of the human body and the relative growth of the various organs and parth (*Amer. Journ. of Anat.*, vol. IX, p. 118).

Jackson, 1913. Postnatal growth and variability of the body and of the various organs in the albino Rat (*Am. Journ. Anat.*, vol. XV, p. 1, 68).

Jaubert de Beaujeu, 1917. Courbes de cicatrisation des plaies (*Journ. de Phys. et Path.*, vol. XVII, p. 72).

Jucci, 1922. Sulla curva di sviluppo del bacco da seta (*Bollett. del Lab. di Zool. gen. e agraria della Scuola sup. d'Agr. in Portici*).

Kellicott, 1908. The growth of the brain and viscera in the smooth Dogfish (*Mustelus canis*) (*Amer. Journ. of Anat.*, vol. VIII, n° 4).

King (Helen), 1915. On the weight of the albino at Rat birth and the factors that influence it (*Anat. Rec.*, vol. IX, p. 213).

King (H.), 1923. The growth and variability in the body weight of the Norway Rat (*Mus norwegicus*) (*Anat. Rec.*, vol. XXV).

King (H.) and Stotsenburg, 1915. On the normal sex ratio and the size of the litter albino Rat (*Anat. Rec.*, vol. IX, p. 403, 20).

Lamson and Edmond, 1914. (*Storr. Agric. Station Bull.*, vol. LXXVI).

Lapicque et Giroux, 1923. Sur le nombre des fibres nerveuses périphériques en fonction de la grandeur du corps (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 43).

Le Breton et Schaeffer, 1923, Variations biochimiques du rapport nucléoplasmique au cours du développement embryonnaire (*Fac. Med. Strasbourg Trav. Inst. Phys.*).

Lecomte du Noüy, 1916. Relation between the age of the patient, the area of the wound and the index of cicatrization (*Journ. Exp. Med.*, p. 461).

Lecomte du Noüy, 1916. Cicatrization of wounds. Mathematical expression of the curve (*Journ. of Exp. Med.*, p. 451).

Lecomte du Noüy, 1917. Mathematical study of the extrapolation formula (*Journ. of Exp. Med.*, p. 721).

Lecomte du Noüy, 1917. *Recherches expérimentales et application des méthodes de mesures et de calcul à un phénomène biologique : la cicatrisation* (*Thèse de Science.* Paris, Gauthier-Villars, édit.).

Lecomte du Noüy, 1918. Recherche d'une équation générale de la loi de cicatrisation normale des plaies de surface (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVII, p. 39).

Legou, 1903. *Quelques considérations sur le développement du fœtus* (Thèse, Paris).

Lockhead and Cramer, 1908. The glycogenic changes in the placenta and the fœtus in the pregnant Rabbit : A contribution to the chemistry of growth (*Proc. Roy. Soc. London*, vol. LXXX, p. 263).

Luciani et Lo Monaco, 1897. L'accroissement progressif en poids et en azote de la larve du Ver à soie par rapport à l'alimentation nécessaire dans les âges successifs (*Arch. Ital. de Biol.*, vol. XXVII, p. 340, et *Rendiconti della R. Ac. dei Lincei*, vol. VI, fasc. 5).

Lumière (A.), 1917-1918. Les lois de la cicatrisation des plaies cutanées (*Rev. de Chir.*, mai-juin 1917 ; janvier, février, mai, juin, 1918. *Ac. Sc.* Paris, 1918).

Lumière (A.), 1922. *Les lois de la cicatrisation des plaies cutanées* (Doin éditeur).

Mendel and Leavenworth, 1908. Chemical studies on growth. IX. Notes on the composition of embryonic muscular and nervous tissues (*Amer. Journ. of Phys.*, t. XXI, p. 99).

Mendel and Leavenworth, 1907-1908. III. The occurence of glycogen in the embryo Pig (*Amer. Journ. of Phys.*, t. XX).

MENDELEEFF, 1923. Les cultures de tissus embryonnaires de Cobayes dans des milieux de pH déterminé (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 291, n° 4).

MENDELEEFF, 1923. Les phénomènes physico-chimiques dans la genèse des tissus embryonnaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, n° 4, p. 293).

MICHAELIS, 1906. Altersbestimmung menslicher Embryonen (*Arch. f. Gynäkol.*, Bd. LXXVIII).

MINOT, 1891, Senescence and rejuvenation (*Journ. of Phys.*, vol. XII, p. 97, 153).

MINOT, 1907. The probleme of age, growth and death (*Pop. Science Monthly* juin, décembre 1907).

MINOT, 1908. *The problem of age, growth and death*, London.

MORGULIS (SERGIUS), 1911. Studies of inanition in its bearing upon the problem of growth (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XXXII, p. 169).

OSTWALD, 1908. Ueber die zeitlichen Eigenschaften der Entwicklungsvorgänge (*Vorträge und Aufzatze über Entw. mech. d. Org. Heft* V).

PEARL, 1909. Biometrics (*Amer. Natur.*, t. XLIII, n° 509, p. 302).

PEARL, 1921 (*Scient. Monthly.*, t. XII, p. 332).

PFLÜGER, 1903. Ueber den Glycogengehalt der fötalen Leber (*Arch. f. Ges. Phys.*, Bd. XCV, p. 19).

QUETELET, 1871, *Anthropométrie* (Bruxelles).

READ, 1913. Observations on the duckling periode in the Guinea-pig (*Univ. of Cal. publ. in Zool.*, vol. IX, p. 342).

REED, 1913. The intra-uterine growth-cycles of the Guinea-pig (*Arch. Ent. Mech.* Bd. XXXV, p. 709).

REED, 1921. The rate of growth following an initial of suppression (*Amer. Natur.* p. 539, 555).

REGAN, 1914. *The effect of lactation on growth* (*Thèse*, Columbia).

RIDELLA, 1913. Modifications qui ont lieu dans le poumon avant et après la naissance en rapport avec la fonction respiratoire (*Arch. Ital. de Biol.*, vol. LIV, p. 371).

RITTER and MYRTLE, JOHNSON, 1911. The growth and differentiation of the chain of *Cytosalpa affinis* (*Journ. of Morph.*, vol. XXII, p. 395).

ROBERTS, 1878. *Manual of anthropométrie.*

ROBERTS, 1906. On the uniform lineal growth of the human fœtus (*The Lancet*, vol. CLXX, p. 295).

ROBERTSON, 1908. On the normal rate of growth of an individual and its biochemical significance (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXV, p. 571, 614).

ROBERTSON, 1908. Further remarks (*Arch. f. Ent. Mech.*, Bd. XXVI, p. 108, 118).

ROBERTSON, 1910. Explanatory remarks concerning the normal rate of growth of an Individual and its Biochemical significance (*Biol. Centralbl.*, t. XXX, p. 316).

ROBERTSON, 1915. Studies on the growth of Man (*Amer. Journ. of Phys.*, vol. XXXVII, p. 1).

ROBERTSON, 1920. *Principles of biochemistry.* Philadelphie.

ROBERTSON and BURNETT, 1913. The influence of lecithin and cholesterin upon the growth of Tumors (*Journ. Exp. Med.*, vol. XVII, p. 344, 52).

RUBNER, 1908. *Das Problem des Lebensdauer und seine Beziehungen zur Wachs tum und Ernäbrung* (Oldenburg).

SCHAPER, 1902. Beiträge zur Analyse des tierschen Wachstums (*Arch. f. Ent. Mech. der Org.*, t. XIV, p. 307).

SCHAPER, 1905. II. Teil. Ueber zellproliferatorische Wachstumszentrer und derne Beziehungen zur Regeneration und Geschwustbildung (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XIX, p. 348).

SCHUEPP, O. 1920. Ueber Form und Darstellung der Wachstumkurven (*Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, Bd. XXXVIII, p. 193).

Schafer Sharpey, 1921. *Les glandes à sécrétion interne. Physiologie et physiopathologie des glandes endocrines* (Edition française, Octave Doin, Paris).

Sierp, 1920. Recherches sur la grande période de croissance (*Biol. Centralb.*, Bd. XL, p. 433, 457).

Spain and Loeb, 1916. Quantitative analysis of the influence of the size on wound healing (*Journ. of Exp. Med.*, p. 107).

Springer, 1909. A study of growth in the Salamander *Diemyctylus viridescens* (*Journ. exp. Zool.*, vol. VI, n° 1).

Stewart, 1922. Study of the respiratory epithelium (*Anat. Record.* vol. XXV).

Stotsenburg, 1915. The growth of the fœtus of the albino Rat from the 30 to the 22nd day of gestation (*Anat. Record.*, vol. IX, p. 667).

Tuffier and Desmarres, 1918. A note on the progress of cicatrisation of war wounds (*Journ. exp. Med.*, vol. XXVII, p. 165).

Tuttle, 1908. The relation between weight and age in the fœtus (*Journ. Med. Assoc.*, vol. L, p. 919).

Vaney et Maignon, 1903, 1904, 1095. Contribution à l'étude physiologique des métamorphoses du Ver à soie (*Rap. Lab., études de la soie*, vol. XII).

Vaney et Maignon, 1905. Variations subies par le glucose, le glycogène, la graisse et les albumines solubles au cours des métamorphoses du Ver à soie (*C. R. Acad. Sc.*, 1er mai 1905).

Vaney et Maignon, 1905. Influence de la sexualité sur la nutrition du *Bombyx mori* aux dernières périodes de son évolution. Localisation du glycogène, des graisses et des albumines solubles au cours de la nymphose (*C. R. Acad. Sc.*, 8 mai 1905).

Vaney et Maignon, 1906. Contribution à l'étude physiologique des métamorphoses du Ver à soie (*Rapports du Labor. d'études de la soie*, vol. XII).

Vierordt, 1906. *Anatomische, physiologische und physicalische Daten und Tabellen*, Jena.

Vignes, 1923. *Physiologie obstétricale normale et pathologique* (Paris, Masson éditeur).

Vignes, 1924. Le poids des enfants mis à terme ou au voisinage du terme dans la population hospitalière de l'agglomération parisienne. (*Revue anthropologique*, vol. XXXIV).

Vlès et Fauré-Fremiet, 1919. Voir Fauré-Fremiet.

Welcker und Brandt, 1902. Gewichtsverthe des Körperorgane bei dem Menschen und den Tieren. Ein Beitrag zur vergleichenden Anatomie und Entwicklungsgeschichte (*Arch. f. Anthrop.*, Bd. XXVIII).

CHAPITRE VI

La multiplication des cellules libres. — Protozoaires

I. **Introduction**. — Examinons les conditions de croissance dans une culture d'Infusoires ciliés, maintenue à température constante ; si pour une espèce donnée nous constatons qu'aucune modification ne devient sensible au cours d'une série de bipartitions, nous supposons implicitement :

a) que la taille maximum moyenne de cette espèce cellulaire demeure constante ;

b) que, dans des conditions données de température, l'accroissement moyen de la cellule entre deux divisions se fait à vitesse constante.

On doit donc conclure que, à température donnée, le temps écoulé entre deux bipartitions est constant.

Si, dans ces conditions, on envisage maintenant l'ensemble des cellules formées par bipartition à partir d'une cellule initiale, et si l'on cherche à exprimer la variation de la masse protoplasmique totale en fonction du temps, on doit trouver un accroissement logarithmique indéfini ; nous avons déjà cru trouver un accroissement de cette forme dans le cas des colonies régulièrement dichotomiques de Vorticellides dont la croissance était mesurée en fonction du nombre des générations.

Slator (1913) étudie la croissance des cellules de Levure de bière qui répond bien au cas précité, mais il l'exprime de manière un peu différente.

Soit un milieu supposé illimité, ensemencé avec N cellules de Levure ; si l'on nomme n le nombre total des cellules existant au temps t et provenant de la multiplication des N cellules primitives, le taux de croissance sera exprimé par la relation :

$$(1) \qquad \frac{dn}{dt} = K\,(N + n)$$

K est la constante de croissance qui dépend évidemment de la température et de la valeur nutritive du milieu.

En intégrant il vient :

$$K = \frac{1}{t} ln \frac{N+n}{N} \quad (2)$$

ou

$$n = N(e^{Kt} - 1). \quad (2\,a)$$

Slator a vérifié l'application de ces formules en calculant l'accroissement de la masse totale de Levure (nombre n) soit d'après des numérations, soit d'après les mesures du travail chimique fourni par ces cellules, c'est-à-dire par la mesure de la fermentation du sucre rapportée à l'unité de temps.

Quatre procédés expérimentaux différents lui ont donné, pour le calcul de K, un résultat constant dans des conditions semblables de milieu et de température, vérifiant ainsi la loi logarithmique de croissance indéfinie pour une masse de cellules libres.

Cependant au point de vue des phénomènes généraux de la croissance nous avons déjà constaté :

1° que chez les Métazoaires, la proposition *a*) n'est pas nécessairement exacte ;

2° que chez les Infusoires la proposition *b*) n'est vraie qu'en première approximation ;

3° que, enfin, presque toutes les courbes de croissance étudiées expriment non point une loi logarithmique indéfinie, mais un cycle ou une succession de cycles au cours desquels la vitesse de la croissance varie entre 0 et un maximum.

Le cas des cellules isolées serait-il donc différent de celui des cellules constituant soit un ensemble organisé tel qu'un Métazoaire, soit une simple colonie ?

A la vérité, la loi logarithmique formulée par Slator ne peut s'appliquer en première approximation qu'à une culture de cellules libres se multipliant dans un milieu infini ; mais cette condition n'est jamais réalisable dans la pratique expérimentale, de sorte que la loi logarithmique ne peut s'appliquer qu'aux tout premiers stades de la multiplication cellulaire.

On observe toujours ensuite un ralentissement, puis un arrêt de la multiplication cellulaire, dus à l'appauvrissement du milieu nutritif limité, et à l'accumulation progressive dans celui-ci d'excrétas défavorables ou même nuisibles.

Il est donc pratiquement impossible d'étudier la croissance normale d'une masse importante de cellules isolées se multipliant dans un milieu limité ; une autre méthode, qui ne présente plus ces inconvénients, consiste à isoler périodiquement, au cours de la multiplication cellulaire, un petit nombre d'individus qui sont placés chaque

fois dans un grand excès de milieu nutritif neuf ; on obtient ainsi une ou plusieurs lignées que l'on peut étudier pendant un temps très long. Cette méthode, qui procède en quelque sorte par réensemencement ou par repiquage, est directement inspirée des méthodes bactériologiques qui permettent la multiplication indéfinie des Bactéries et des Levures. Mais, si l'on opère avec les précautions nécessaires, on peut étudier, au cours de la culture d'une telle lignée indéfinie, les variations du taux de multiplication et calculer par là même l'accroissement théorique de la masse cellulaire totale *qui aurait pu se développer* à partir de l'élément initial.

C'est en opérant ainsi que Maupas (1888) a pu calculer qu'un individu de *Stylonychia mytilus* dont le volume est de l'ordre de 10^{-7} centimètre cube, mais qui se divise cinq fois par vingt-quatre heures à 25°-26° donnerait naissance en 5 jours à 1 gramme de protoplasma et en 6 jours 1/2 à 1 kilogramme de matière organisée.

Nous allons examiner les résultats obtenus chez les Infusoires ciliés par l'étude du taux de la multiplication pendant le développement de lignées cellulaires.

2. **Les cultures d'Infusoires.** — Maupas (1888) a cultivé par la méthode de repiquages fréquents, un certain nombre d'espèces d'Infusoires, et le fait primordial apporté par ces expériences est que de telles cultures *ne peuvent être continuées indéfiniment.*

Maupas commence généralement ses cultures à partir d'Infusoires qui viennent de se conjuger, d' « ex-conjugants », et dans ces conditions le nombre des générations obtenues par repiquage en milieu nutritif neuf ne dépasse pas 316 pour *Stylonichia pustulata*, 660 pour *Leucophrys patula*, 320 à 330 pour *Onychodromus grandis*, etc., etc.

Une lignée d'Infusoires subit donc une sorte d'évolution fatale que Maupas compare à l'évolution de l'ensemble des cellules qui constituent un Métazoaire. Dans le cas de la culture d'Infusoires, il distingue trois périodes : la première est une période de multiplication par scissiparité ou période *agamique* ; la seconde est une période de puberté et de maturation sexuelle en quelque sorte ; l'optimum de cet état de maturation « karyogamique » caractérise la période « *eugamique* » pendant laquelle les Infusoires peuvent se conjuguer. Mais après ce moment commence une nouvelle période caractérisée par un ralentissement de la multiplication, une altération de la forme et de la taille ; c'est la période de *sénescence* qui se termine par l'arrêt des phénomènes de division, et par la mort, si les Infusoires n'ont pas subi en temps utile la conjugaison. Il faut remarquer tout de suite que le fait, pour quelques Infusoires, d'avoir atteint la période eugamique ne détermine pas *ipso facto* la conjugaison régénératrice. Ces Infusoires

peuvent se conjuguer, mais d'autres conditions sont nécessaires pour que la conjugaison se produise. La faim en particulier joue un rôle de premier ordre dans le déterminisme de ce phénomène, et MAUPAS définit encore un autre facteur important : la diversité d'origine des Infusoires conjugants, faute de quoi la conjugaison n'a point lieu ou demeure en quelque sorte stérile si elle se produit entre individus de même souche.

Il existe donc un premier problème qui est celui du déterminisme de la conjugaison ; depuis le travail de MAUPAS, ce problème a fait l'objet de très nombreuses recherches et observations, de CALKINS, (1902 et 1904), ENRIQUES (1907-1910), ZWEIBAUM (1912), CHATTON (1923), etc., etc.

Un autre problème est celui du rôle de la conjugaison, soit au point de vue de la physiologie cellulaire, soit au point de vue des propriétés qualitatives de l'espèce et des phénomènes de variation. Ces deux points de vue nous entraîneraient hors de notre sujet.

La question qui nous intéresse est de savoir si, comme le pense MAUPAS, *la conjugaison est un phénomène nécessaire, indispensable pour assurer la multiplication indéfinie d'une espèce cellulaire.*

Les travaux de CALKINS (1902-1904) ont précisément pour objet de répondre à cette question. CALKINS perfectionne la technique de MAUPAS en isolant chaque jour dans une goutte de liquide nutritif un seul Infusoire et en notant le nombre exact des individus obtenus par bipartition 24 heures après ; on en déduit le nombre de divisions réalisées en 24 heures, ce qui permet de connaître jour par jour la valeur du taux de multiplication ; pour éliminer quelques perturbations, CALKINS cultive parallèlement de la même manière et dans des conditions identiques 4 lignées provenant d'un même individu initial, et calcule le taux de division journalier moyen ; enfin, la période de 24 heures étant un peu courte par rapport au rythme de la bipartition, cet auteur calcule ensuite la moyenne du taux de division pour une période de 10 jours, et trace la courbe de ces variations.

Avec cette technique, il est possible de suivre quantitativement les variations de l'activité de multiplication dans une lignée cellulaire déterminée, toutes conditions paraissant être égales d'ailleurs.

Les résultats obtenus avec *Paramæcium caudatum* vérifient les faits observés par MAUPAS ; le taux de multiplication n'est pas constant dans une lignée cellulaire, il s'abaisse progressivement, en d'autres termes, le développement, la croissance de la masse cellulaire totale ne sont pas indéfinis, mais *cycliques* ; chez *Paramæcium caudatum*, la durée d'un cycle est d'environ 3 mois, et englobe 90 à 170 générations cellulaires. La fin du cycle est caractérisée par un abaissement considérable du taux de division, l'apparition de bipartitions

anormales et la formation d'individus monstrueux, enfin la dégénérescence et la mort ; cette dernière période est bien la période de sénescence de MAUPAS.

Mais la conjugaison qui semble indispensable à la multiplication indéfinie d'une lignée d'Infusoires met en jeu des mécanismes cytologiques étroitement comparables à ceux de la fécondation de l'œuf des Métazoaires (1), CALKINS en conclut que la *parthogenèse expérimentale* doit être réalisable chez les Infusoires, et que l'emploi des *stimulants* appropriés doit pouvoir suppléer à la conjugaison. L'expérience démontre le bien fondé de cette hypothèse.

CALKINS utilise d'abord des *stimulants* variés : agitation mécanique, variations brusques de la température, agents chimiques divers. ou plus simplement encore changement du milieu nutritif. Presque toujours, si la *stimulation* est appliquée à des Infusoires parvenus à la fin d'un « cycle », le taux de multiplication se relève rapidement, et un nouveau cycle commence sans qu'aucun phénomène de conjugaison se soit accompli.

CALKINS cherche à analyser l'action des stimulants, mais il semble que celle-ci s'exerce par des mécanismes très divers. Le changement du milieu nutritif, tel que par exemple le remplacement de l'infusion de foin par l'extrait de Liebig, doit être prolongé un certain temps. Au contraire, les stimulants chimiques agissent en un temps court, 30 minutes suffisant en général. Mais l'alcool semble augmenter l'activité générale, tandis que la strychnine agit peut-être de manière négative en inhibant les oxydations cellulaires ; le phosphate de potasse agirait sur le noyau, mais d'autres sels, dont l'action n'est pas définie, KCl, NaCl, $MgCl^2$, etc., sont également utilisables. KULAGIN (1899) avait entrevu des faits analogues, et LOISEL (1903) vérifie quelques-uns des résultats de CALKINS (2).

Il semble en un mot que l'action des stimulants ne puisse être rapportée à un même schéma général ; cependant leur utilisation au moment opportun relève toujours le taux de multiplication, et grâce à leur emploi renouvelé à chaque période de dépression caractéristique de la fin d'un cycle, CALKINS a pu conduire une de ses cultures de *Paramæcium* jusqu'à la 742^e génération dans l'espace de 23 mois, sans que la conjugaison intervienne jamais.

Cette méthode est insuffisante, et les *stimulants*, même variés, ne

---

(1) Nous ne pouvons insister ici sur les divisions de réduction des micronucléus, l'échange des micronucléus migrateurs et la reconstitution dans chaque exconjugant d'un noyau de copulation. Remarquons cependant avec DOBELL (1914) que des homologies évidentes ne doivent pas être recherchées dans tous les détails et que l'assimilation de deux Infusoires conjugants à des gamètes résulte d'une erreur d'interprétation et d'application de la théorie cellulaire.

(2) BALBIANI (1898) a publié un ensemble d'observations sur l'influence des sels sur les Infusoires ciliés qui pourraient servir de base à une étude de leurs actions spécifiques.

relèvent pas indéfiniment le taux de multiplication ; il semble que la fin de chaque cycle présente une phase de *dépression* plus accentuée que la précédente ; dans un travail plus récent, Calkins (1919), montre sur *Uroleptus mobilis* que les stimulants deviennent totalement inefficaces à partir d'une certaine durée de culture, et la conclusion de ce fait est qu'il existe bien un *vieillissement protoplasmique*, amenant tôt ou tard à la *sénescence* de Maupas, à la *mort physiologique* de R. Hertwig. La conjugaison normale serait donc une inéluctable nécessité.

Si ces conclusions sont exactes, la croissance d'une masse d'Infusoires, considérée indépendamment des conditions du milieu, obéit à la loi de l'optimum ; elle est cyclique, et, si l'on voulait représenter en fonction du temps l'accroissement pondéral de toute la masse protoplasmique, la variation du taux de division nous indique à elle seule que l'on obtiendrait une courbe en S et qu'un cycle de Calkins pourrait être exprimé par l'équation de Robertson. Il semble évident d'autre part que le *vieillissement* protoplasmique, bien qu'il soit influencé par le milieu, a sa cause intrinsèque dans la cellule elle-même.

Les résultats de Calkins ont été confirmés par les nombreuses recherches de Woodruff (1905), Popoff (1907), Gregory (1909), Woodruff et Baitsell (1911), Moody (1912), etc.

Woodruff (1905) applique à des Infusoires hypotriches les méthodes de Calkins ; les cultures sont faites dans des infusions de foin ou d'herbes fraîches et le taux moyen de division est calculé pour des périodes de 5 ou 10 jours ; les cultures ont été poursuivies pendant les durées suivantes :

Oxytricha fallax.....	culture A 33 mois...	860 générations
Pleurotricha lanceolata.....	culture A 9 mois...	mort physiologique
Pleurotricha lanceolata.....	culture B 16 mois...	fin accidentelle
Gastrostyla Steinii.....	culture B 6 mois...	mort physiologique

Les courbes de variation du taux de multiplication ont montré pour toutes ces cultures, et surtout pour celle d'*Ox. fallax*, des périodes de dépression, c'est-à-dire des cycles.

Woodruff a employé comme stimulants une série de sels : KH^2PO^4 K^2HPO^4, K^2SO^4, $MgSO^4$, KCl, KBr, NaCl. Il semble que l'action de ces électrolytes soit encore plus complexe que ne l'avait supposé Calkins. L'action varie suivant le moment du cycle où on les fait agir ; la concentration joue un rôle important ; enfin KCl et NaCl peuvent ralentir le taux de multiplication.

De toutes manières, comme dans les expériences de Calkins, plusieurs cultures de Woodruff se sont éteintes malgré le renouvellement des stimulations.

Gregory (1909) observe au cours des cultures de *Tillina magna*

les cycles de Calkins ; mais l'Infusoire est comparativement peu sensible à l'action des stimulants essayés : K^2HPO^4, extrait de Bœuf, suc pancréatique, etc. ; chaque « stimulation » donne bien cependant un léger « rajeunissement » mais les cultures ne dépassent point les durées suivantes :

Culture A 3 mois ½.....	210 générations
Culture B 13 mois ½.....	548 générations

Moody (1912) cultive *Spathidium spathula* et emploie des stimulants variés, extraits de Bœuf, sels divers, chaque fois que le taux de division tombe de 3,1 à 1,6 ce qui indique une période de dépression. En l'espace de cinq mois, plusieurs dépressions ont pu être surmontées et la culture a atteint 218 générations ; à partir de ce moment, comme dans toutes les autres expériences, le taux de division a diminué, malgré les stimulations, et la culture s'est éteinte.

3. **Rythmes et cycles.** — L'étude minutieuse des graphiques exprimant les variations du taux de multiplication dans les cultures a mis en évidence une complexité plus grande que ne l'avait d'abord pensé Calkins. En dehors des variations importantes caractéristiques des *cycles*, il semble exister en effet des fluctuations moins accentuées et de courte période. Ce fait conduit Woodruff à distinguer et à définir dans son premier mémoire (1905) :

1° des *rythmes*, ou variations faibles et périodiques du taux de division dues à quelque facteur inconnu ; ces variations étant autorégularisables ;

2° des *cycles*, ou variations périodiques du taux de division, s'étendant sur un nombre varié de rythmes et se terminant par la mort physiologique, si la conjugaison ou l'action des stimulants ne détermine pas un rajeunissement.

En résumant les résultats obtenus avec des cultures de *Paramæcium aurelia*, Woodruff et Baitsell (1911) précisent cette notion des *rythmes* et des *cycles*, et montrent, par de nombreuses expériences, que les rythmes sont indépendants des conditions de milieu ; ils apparaissent en effet sans aucune modification sensible, dans des lignées soumises à un régime constant ou varié ; la température elle-même ne semble guère les influencer si ce n'est en modifiant le taux de division de telle manière que le retard ou l'accélération produits peuvent en quelque sorte « interférer » avec le rythme.

Woodruff et Baitsell estiment que ces rythmes *correspondent à des variations périodiques de l'état interne de la cellule* ; ils remarquent par ailleurs que la sensibilité de l'Infusoire aux stimulants varie fréquemment, et que Towle a signalé, lui aussi, de telles variations rythmiques ; celles-ci seraient dans une certaine mesure compa-

rables à celles déjà signalées dans l'œuf au cours du cycle mitotique.

Ces rythmes à courte période, occupant une durée de 5 à 10 jours, étendus sur une vingtaine de générations, ont été observés chez d'autres espèces d'Infusoires, par Gregory et par Moody. Leur existence serait particulièrement intéressante, et montrerait que le coefficient d'accroissement n'est pas constant dans une lignée cellulaire, que par conséquent la formule de Slator ne s'applique pas aux Infusoires ciliés ; la cause intime de ces petits « cycles de croissance » paraît être de nature interne et le « vieillissement protoplasmique » qui s'accentue à travers les périodes de dépressions de chaque « cycle » relèverait lui aussi de phénomènes propres à la cellule. Quels sont donc les rapports exacts des cycles et des rythmes ?

Woodruff reconnaît la difficulté de les définir, et dans un mémoire publié avec Erdmann (1914) critique la notion même des rythmes à courte période, car la période de cinq jours généralement adoptée dans leurs recherches est arbitraire ; or, si l'on détermine le taux de division pour des périodes plus courtes, les rythmes se compliquent de petites fluctuations de moins en moins régulières. Ces auteurs insistent encore sur l'extrême sensibilité des Infusoires aux variations de température et sur le fait qu'aucun thermostat n'est assez constant pour que de petites variations du taux de division ne puissent être imputées à une variation accidentelle de la température. Enriques (1910) avait déjà objecté à l'existence des rythmes des raisons analogues, et si nous insistons sur cette question des rythmes et des cycles c'est parce que sa discussion a été fructueuse.

Woodruff et Erdmann (1914) concluent qu'un fait demeure certain : les plus faibles valeurs du taux de division indiquées par ces fluctuations, dont la période est artificielle, se distribuent elles-mêmes périodiquement mais suivant un rythme intermédiaire, et notablement plus petit que les périodes cycliques de Calkins. D'autre part, leurs recherches ont attiré l'attention sur l'importance considérable que présente pour l'interprétation des rythmes et des cycles la composition du milieu nutritif, et surtout la constance de cette composition.

Le milieu le plus couramment employé est l'infusion de foin ; mais, comme le remarque Enriques, le développement des Bactéries qui constituent l'aliment solide des Paramæcies se fait au hasard des contaminations dues aux Infusoires eux-mêmes, à l'eau, au contact de l'air.

Hargitt et Fray (1917) ont isolé et caractérisé trente espèces bactériennes différentes dans les infusions de foin ; ils ont essayé des cultures mixtes pures d'une espèce bactérienne et de Paramæcies stérilisées par cinq passages successifs dans l'eau stérile. Dans ces

conditions, il apparaît que les diverses espèces bactériennes n'ont pas la même valeur pour la multiplication des Paramæcies ; la meilleure est le *Bacilus subtilis*, mais un mélange de diverses espèces est toujours préférable.

Oehler (1919, 1920 et 1923), Chatton (1923) ont réalisé aussi des cultures pures mixtes de Bactéries et d'Infusoires, et Phillips (1922) reconnaît que certains rythmes tout au moins sont indépendants de la nature des Bactéries (1).

De toute manière l'infusion de foin n'est pas le meilleur milieu nutritif pour *Paramæcium* tout au moins, et, dès 1911, Woodruff et Baitsell lui substituent avantageusement l'extrait de bœuf Liebig dilué à 0,025 % et stérilisé, qu'ils avaient employé tout d'abord comme *stimulant* ; ce milieu ,dont la composition est remarquablement constante, présente l'avantage de pouvoir être utilisé pendant de très longues périodes, sans qu'il soit nécessaire de lui substituer une autre nourriture ; des stimulants peuvent cependant être employés de temps à autre. Les cultures de *Paramæcium aurelia* dans l'extrait de bœuf ont été suivies par Woodruff et Baitsell pendant 7 mois *sans montrer de périodes de dépression profonde* ; elles étaient en avance de 108 générations sur une culture témoin faite sur des infusions de nature variée. Le fait nouveau et très important est que dans ces cultures élevées avec un milieu nutritif favorable, *les cycles de* Calkins *n'apparaissent pas.* On observe seulement des variations périodiques du taux de division dont le rythme est plus court que celui des cycles, et *ces variations se régularisent elles-mêmes.*

Popoff (1907) a étudié la multiplication de *Stylonichia mytilus* en culture, cet Infusoire recevant une nourriture toujours comparable constituée par un autre Infusoire de petite taille appartenant au genre *Colpidium* (2).

La culture a duré trois mois à la température de 17°-19° C ; Popoff isole un individu tous les cinq jours et d'après le nombre de ses descendants, calcule le taux de division pour *un jour.* L'histoire de cette culture se résume ainsi : au début, le taux de division oscille entre 1 et 2 ; après les 20 premiers jours, il tombe aux valeurs journalières suivantes : 0,8, 0,1, 0,5, 0,8. C'est la première période de dépression traversée par cette culture, et cette dépression est surmontée par tous les individus (sans l'intervention d'aucun stimulant) car le cinquième jour, le coefficient remonte au-dessus de 1.

---

(1) Les recherches de Peters (1920) ont précisé diverses conditions telles que celle du *p*H optimum.

(2) Maupas nourrissait *St. pustulata* et *St. mytilus*, soit avec de la farine de Maïs cuite, soit avec des proies vivantes, telles que des *Cryptochilum*. Deux cultures parallèles lui ont donné 73 générations, pour les *Stylonichia* nourris avec des *Cryptochilum*, contre 27 seulement pour ceux nourris à la farine de Maïs.

Une 2e dépression apparaît 30 jours après la première et dure trois jours avec les coefficients de division 0,3, 0,2, 0,3 ; Popoff observe une tendance à la conjugaison, sans résultat d'ailleurs.

La 3e période de dépression se manifeste 12 jours seulement après la seconde, elle dure six jours avec des coefficients très bas : 0,3, 0,0, 1,5, 0,1, 0,1, 0,6 et les *Stylonichia* tendent à s'enkyster.

Vingt jours plus tard, une quatrième période de dépression se manifeste pendant 4 jours par un coefficient de division nul 0,0 ; *un seul individu* traverse cette crise et sa descendance se multiplie pendant 10 jours encore ; la cinquième période de dépression se manifeste pendant cinq jours par les coefficients 0,0, 0,1, 1,0, 0,0, 0.0 puis tous les individus présents dans la culture subissent la « mort physiologique ».

Maupas (1888) a suivi pendant 5 mois une culture de *Stylonichia pustulata*, et les chiffres publiés n'indiquent pas l'apparition périodique de la *dépression*, le taux de division paraissant demeurer constant ; mais Maupas note fréquemment des enkystements (1).

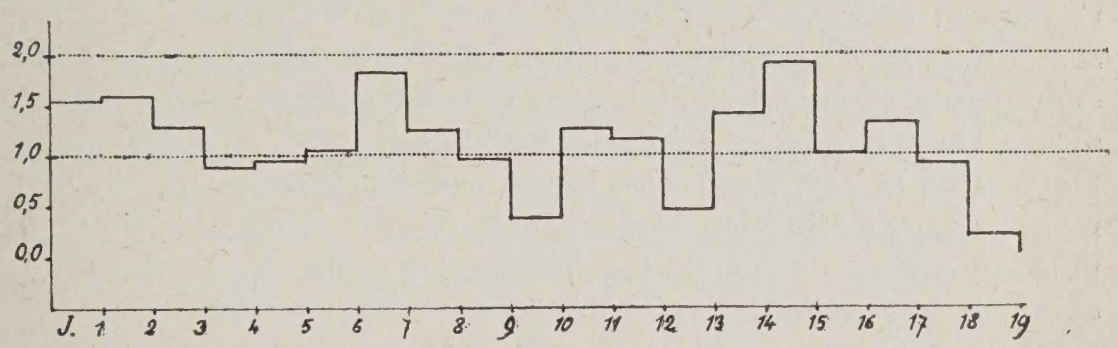


Fig. 56. — *Stylonychia mytilus*. Variation du taux de multiplication en fonction du temps exprimé en jour. Tracé établi d'après Popoff, par Gregory.

Il apparaît manifestement que les *dépressions* se succèdent dans la culture de Popoff suivant une période moyenne notablement plus courte que celle des « cycles » de Calkins et de Maupas.

Elles correspondent aux « rythmes » autorégularisables observés par Woodruff et Baitsell chez les Paramæcies cultivées dans un milieu favorable et constant.

Quelle est donc la nature de ces rythmes ?

4. L'endomixie. — Guidé par les idées de R. Hertwig, Popoff aborde l'étude des phénomènes cytologiques de la *dépression* ; il constate qu'à chacune de ces périodes, le volume du corps de l'Infusoire diminue, la forme devient irrégulière, les soies caudales entrent en régression, le cytoplasma présente un aspect anormalement clair.

(1) Les chiffres journaliers relatifs à *Styl. mytilus* n'ont pas été publiés par Maupas.

Mais les modifications les plus importantes sont relatives à l'appareil nucléaire, et ici Popoff signale successivement :

1° une augmentation anormale du volume du macronucléus constituant une véritable hypertrophie ainsi que des signes de dégénérescence : le noyau devenant irrégulier, plissé, et parfois même vacuolisé ;

2° la multiplication des micronucléus dont le nombre est toujours augmenté pendant la dépression ;

3° la fragmentation du macronucléus hypertrophié et la résorption intracytoplasmique de masses chromatiques plus ou moins diffuses provenant de cette désagrégation.

Popoff examine ces faits à la lumière des idées de R. Hertwig sur la relation nucléoplasmique et sur les chromidies ; il pense que les phénomènes de dépression ont une signification très générale et se retrouvent chez les Métazoaires au cours de l'évolution des cellules somatiques et des cellules sexuelles. Admettant avec Maupas que la conjugaison et la fécondation sont des phénomènes homologues, et, avec Calkins, que les stimulants chimiques sont l'équivalent des facteurs de la parthénogenèse expérimentale, il considère le relèvement du taux de division après chacune des premières périodes de dépression comme un fait de parthénogenèse naturelle. Le mécanisme cytologique de celle-ci n'est pas encore précisé cependant.

On vient de voir que Maupas et Popoff signalent au cours des cultures de *Stylonichia* la fréquence des phénomènes d'enkystement ; ceux-ci apparaissent surtout au cours des périodes de dépression. Fermor (1913) étudie les kystes de *Stylonichia pustulata* soit par coloration des kystes entiers soit sur des coupes. La formation de ces kystes est facilement provoquée par la disette alimentaire.

Fermor montre d'importantes transformations de l'appareil nucléaire chez *Stylonichia* enkysté ; au début cet appareil est normal, mais on constate bientôt la fusion des deux macronucléus, puis la dégénérescence de la masse unique formée qui devient irrégulière et se fragmente. Pendant ce temps, les deux micronucléus se fusionnent, puis le noyau ainsi formé se divise et reconstitue un appareil nucléaire complet, avec deux macronucléus de nouvelle formation.

Ce remaniement complet de l'appareil nucléaire n'est pas sans analogie avec les transformations intimes dont les Infusoires conjugants sont le siège, et Fermor estime que, pendant l'enkystement, les *Stylonichia* subissent un rajeunissement endogène. Est-ce ce phénomène nouveau qui met fin aux périodes de dépression de Popoff ? la dégénérescence des macronucléus et la multiplication des micronucléus constatées par cet auteur le prouvent manifestement. D'ailleurs ces phénomènes ont été entrevus déjà par Maupas, qui signale au cours de

ses élevages de *St. pustulata*, des débuts de dégénérescence nucléaire interprétés comme le signe de la sénescence prochaine. Il reste à savoir si le rajeunissement endogène se retrouve dans tous les cas où les périodes de dépression sont surmontées par les Infusoires sans le secours d'un stimulant ou, en d'autres termes, dans tous les cas où l'on peut observer les rythmes automatiques de Woodruff et Baitsell.

Dès 1908, Woodruff soupçonne, chez *Paramæcium*, des transformations nucléaires, au cours des périodes de dépressions, et en 1914, Woodruff et Erdmann découvrent chez *Par. aurelia* un renouvellement complet de l'appareil nucléaire au moment de la dépression, renouvellement tout à fait comparable à celui observé par Fermor pendant l'enkystement de *Stylonichia* ; ils donnent une description très détaillée de ce phénomène et caractérisent pendant la période de dépression 3 phases distinctes : la phase descendante, le *climax* et la phase ascendante.

La phase descendante est caractérisée par la désintégration du macronucléus qui se fragmente et dégénère. A la fin de cette première phase, les deux micronucléus (1) se divisent chacun deux fois et donnent par conséquent 8 micronucléus ; pendant ces divisions, la membrane nucléaire disparaît et les grains chromatiques subissent parfois une distribution inégale ; certains aspects sont analogues à ceux des divisions de réduction.

La phase moyenne ou climax coïncide avec la disparition complète de l'ancien macronucléus ; en même temps, sur 8 micronucléus, 6 ou 7 dégénèrent; il reste donc un ou deux micronucléus et dans ce dernier cas, l'un d'eux est un peu plus gros que l'autre. La division de l'Infusoire se produit alors, mais plusieurs cas sont possibles en ce qui concerne la division du ou des micronucléus. De toute manière, chaque Paramæcie-fille possède à la fin de cette période un micronucléus et un macronucléus en voie de croissance et de différenciation à partir d'un autre micronucléus.

La phase ascendante marque le début d'une nouvelle période, d'un nouveau rythme ; elle est caractérisée par la reconstitution de l'appareil nucléaire normal : un macronucléus et deux micronucléus.

Woodruff et Erdmann ont dénommé *endomixie* ce phénomène de rénovation. Au point de vue de la physiologie cellulaire, l'endomixie est bien distincte de la conjugaison puisqu'elle ne met en jeu aucun mélange entre substances protoplasmiques ou nucléaires étrangères l'une à l'autre, puisqu'en un mot il ne se forme pas un *synkaryon*. Au point de vue cytologique, l'endomixie ne comporte que deux divisions des micronucléus, c'est-à-dire que le micronucléus restant

(1) Caractéristiques de *P. aurelia* ; on sait qu'il n'en existe qu'un chez *P. caudatum*.

demeure en repos, au lieu de subir une 3e division qui serait très probablement, d'après le schéma de PRANDL, une division de réduction chromosomique donnant deux micronucléus, l'un migrateur et l'autre stationnaire.

L'endomixie est donc bien, suivant l'expression de FERMOR, un rajeunissement endogène, ou, comme le pensent WOODRUFF et ERDMANN un *phénomène régulateur d'origine interne* non influencé par les conditions de milieu, et grâce auquel la multiplication d'une espèce cellulaire peut se continuer indéfiniment.

En effet, WOODRUFF constate, en perfectionnant sa technique, que l'emploi des stimulants est absolument inutile, et qu'avec une nour-

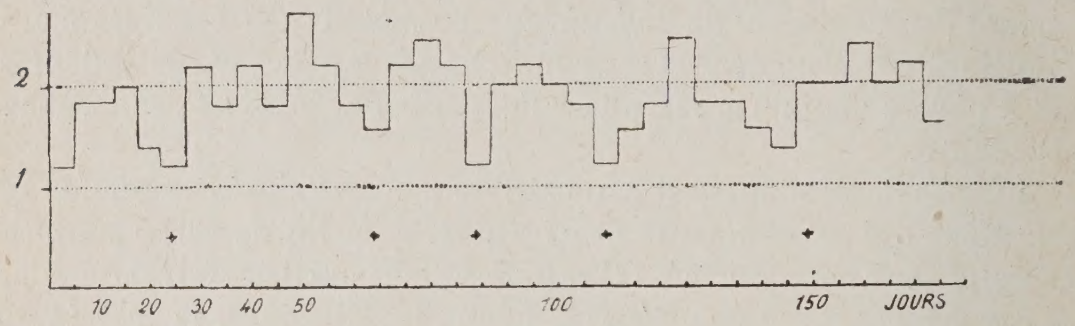


FIG. 57. — *Paramæcium*, culture III ic. WOODRUFF et ERDMANN, 1914.] Taux de division calculé pour des périodes de 5 jours. Les phénomènes d'endomixie sont indiqués par des +.

riture convenable à l'extrait de Bœuf les rythmes endomixiques se succèdent indéfiniment dans une lignée de *Paramæcium*, chaque dépression étant « autorégularisée » par le remaniement de l'appareil nucléaire.

A l'époque où parut ce remarquable travail, les cultures de *Par. aurelia* entretenues par WOODRUFF comptaient déjà sept années d'existence, et 4.500 générations s'étaient succédé sans conjugaison, et sans manifestation de sénescence, donc sans avoir encore parcouru un « cycle » au sens de CALKINS et de MAUPAS. Le rythme endomixique présentait en moyenne, pendant ce temps, une périodicité mensuelle.

R. HERTWIG (1914), CALKINS (1915) ont opposé quelques critiques à la nouvelle conception de WOODRUFF et de ERDMANN ; ils ont supposé par exemple que le hasard avait mis ces auteurs en présence d'une race de Paramæcies agamiques, ou bien encore que la lignée entretenue par WOODRUFF serait devenue agamique par la culture.

ERDMANN et WOODRUFF (1916) ont répondu à ces objections par de nouvelles recherches ; quatre races de *P. aurelia* totalement différentes par leur origine géographique (l'une d'entre elles est une race allemande), leur avaient en effet montré les phénomènes d'endomixie, et cela dès la première année de culture. Ils avaient également trouvé ce phénomène chez *P. caudatum*, mais la période moyenne du

rythme endomixique est plus longue chez cette espèce, puisqu'elle atteint deux mois et englobe 80 à 100 générations.

D'ailleurs, l'endomixie n'est pas spéciale aux Infusoires du genre *Paramæcium* comme on l'a vu par les observations encore incomplètes de Maupas, Popoff, Fermor ; et Calkins (1919) constate elle-même ce phénomène pendant l'enkystement de l'*Uroleptus mobilis*.

Au point de vue physiologique, Woodruff (1917) montre que le rythme endomixique présente un synchronisme remarquable pour deux lignées de Paramæcies commencées en même temps à partir d'un même individu. Les variations de nourriture semblent toujours sans influence sur ce rythme, bien que des changements brusques puissent hâter l'apparition du remaniement nucléaire, cette accélération étant suivie d'un retard compensateur à la période suivante. Les expériences de Young (1917) contredisent cependant ces assertions, car certains produits du métabolisme cellulaire, CO^2, ammoniaque, seraient capables de déclancher le processus endomixique dont la régularité ne serait pas aussi précise que le pense Woodruff ni aussi indépendante des conditions extérieures ; ces faits s'accordent assez bien avec les observations de Popoff (1909) sur le déterminisme de la *dépression*.

5. **La cause interne de l'Endomixie.** — Les travaux précédents montrent l'endomixie comme un processus autorégulateur de la dépression et dépendant de conditions cellulaires internes faiblement influencées, de manière secondaire sans doute, par les conditions extérieures variables.

L'existence de cette autorégulation est la preuve que la vitesse de multiplication de certaines cellules libres n'est pas constante, bien que, contrairement à ce qu'avait pensé Maupas, cette multiplication puisse être indéfinie. Nous revenons ainsi au problème posé au début de ce chapitre et nous pouvons conclure que la loi logarithmique de Slator ne s'applique pas à ces espèces cellulaires, et que si l'on voulait représenter en fonction du temps l'accroissement de la masse protoplasmique totale des cellules issues par bipartition successive d'un individu initial, on obtiendrait une succession de courbes en S, exprimant une série de cycles de croissance. Mais ici, comme dans le cas des colonies de Vorticellides, la cause de ces variations périodiques du taux ou de la vitesse de multiplication doit être cherchée dans la cellule elle-même.

R. Hertwig, au cours de ses recherches antérieures et préparatoires aux travaux de Popoff et de Erdmann, avait déjà relevé des périodes de dépression inégalement profondes dans diverses cultures d'Infusoires ciliés. Il pensait que les petites dépressions sont surmontées

par un mécanisme interne, par une autorégularisation, et qu'elles relèvent de légères perturbations de la relation nucléoplasmique ; ces mêmes perturbations deviendraient plus importantes au cours des périodes de dépression entraînant la mort physiologique faute d'une intervention extérieure, conjugaison ou parthénogenèse artificielle. C'est d'accord avec ces idées que Popoff insiste sur l'hypertrophie du macronucléus de *Stylonichia* au cours des périodes de dépression.

Il nous faut revenir ici sur le travail de Koehler (1912) déjà étudié plus haut (voir page 78). On sait que pendant la « croissance fonctionnelle » le macronucléus d'un Infusoire s'accroît d'une quantité Nf jusqu'à la valeur limite

$$N(1+f) < 2N.$$

Par rapport à la constante nucléoplasmique C de l'espèce considérée, cette croissance Nf donne :

$$\frac{N(1+f)}{2P} < C \quad \text{ou} \quad \frac{2P}{N(1+f)} > C$$

ce qui exprime l'état de tension nucléoplasmique. A ce moment la croissance de division Nd est déclanchée, et la limite est donnée par la relation :

$$N(1+f+d) = 2N \quad \text{d'où} \quad (f+d) = 1.$$

Par rapport à la constante nucléoplasmique, nous avons alors l'égalité

$$\frac{N(1+f+d)}{2P} = C.$$

Mais cette représentation n'est exacte qu'en première approximation ; en réalité, on trouve l'inégalité :

$$(f+d) > 1$$

la différence, l'excédent, étant d'ailleurs très faible.

Il en résulte cependant que, à chaque bipartition de l'Infusoire, on constate une augmentation très légère du rapport nucléoplasmique, de sorte qu'au lieu de trouver exactement $\frac{N}{P} = C$ nous trouvons :

$$\frac{N}{P} = C + \delta.$$

Comme ces excédents s'ajoutent, nous trouverons après n divisions l'égalité :

$$\frac{N}{P} = C + \Delta$$

dans laquelle

$$\Delta = \delta_1 + \delta_2 + \ldots . \delta n.$$

Il existe donc une cause de variation de la relation nucléoplasmique

dans le très léger désaccord marqué entre chaque division par la croissance nucléaire et la croissance cytoplasmique, et ce désaccord apparaît lui-même comme une caractéristique possible de la vie cellulaire, comme une nouvelle expression du fait très général que les équilibres cellulaires varient continuellement entre certaines limites au cours des phénomènes du développement.

La variation du rapport nucléoplasmique exprimée par la relation précédente $\frac{N}{P} = C + \Delta$, indique que, après un certain nombre de divisions, le macronucléus est devenu sensiblement plus volumineux qu'à l'origine par rapport à la masse cytoplasmique. C'est précisément l'hypertrophie signalée par Hertwig et Popoff, constatée par Woodruff chez *Oxytricha*, par Sun (1912) chez *Paramæcium*, etc.

Dobell (1914) remarque cependant que cette hypertrophie nucléaire n'est pas toujours constatée au moment de la dépression, et que certaines observations de Calkins, Moody et Woodruff tendraient à en limiter la généralité. Mais Dobell admet que ces divergences ne sont qu'apparentes, et tiennent à quelques confusions encore possibles entre les phénomènes de dépression qui précèdent l'endomixie, et les phénomènes de sénescence qui se manifestent dans une culture soumise à une alimentation défectueuse, et qui s'accompagnent toujours d'une réduction de la taille cellulaire. En réalité, le volume du macronucléus et le rapport $\frac{N}{P}$ augmenteraient toujours au moment de la dépression.

6. **Lignées cycliques et lignées continues.** — Au mois de décembre 1920, Woodruff (1921) a noté la 5071e génération de *Paramæcium aurelia*, dans une de ses cultures âgée de treize années et demie. Pendant cette longue durée de temps, la sénescence ne s'est jamais manifestée, et cette lignée d'Infusoires n'a pas encore parcouru un « cycle » au sens de Maupas et de Calkins. Il semble donc bien que dans un milieu suffisant, la multiplication cellulaire soit *indéfinie* comme le supposait Weismann. *Mais ce développement indéfini n'est pas continu* ; il est cyclique comme celui d'un Métazoaire, et les remaniements nucléaires caractéristiques de l'endomixie viennent périodiquement *réajuster* l'équilibre des constituants cellulaires.

Metalnikoff (1922) a entretenu lui aussi une longue lignée de *Paramæcium caudatum*, qui a donné 3967 générations en 10 ans. Les courbes de variation du taux de multiplication dans cette culture accusent un rythme plus ou moins régulier, qui doit correspondre aux périodes de dépression. Dans les cultures de Metalnikoff, comme dans celles de Woodruff, la conjugaison n'a jamais été

nécessaire et la dégénérescence sénile n'est jamais apparue.

La multiplication indéfinie des Infusoires ciliés comprise dans ce sens est d'ailleurs un fait acquis maintenant pour d'autres espèces.

Enriques (1916) cultive *Glaucoma piriformis* à partir d'un individu prélevé à la fin d'une épidémie de conjugaisons ; le milieu nutritif est constitué par une macération de Chanvre bouillie puis filtrée et conservée dans des tubes stérilisés. La constance de ce milieu n'est qu'apparente, car les Bactéries les plus diverses se développent dans ce bouillon au moment où il est ensemencé avec les Infusoires. Enriques opère deux isolements par jour ; en huit mois, il obtient, à température sensiblement constante, 2.700 générations sans conjugaison. Le taux de multiplication calculé pour un jour demeure pendant toute cette durée compris entre 9 et 11 et les tableaux de Enriques montrent *qu'il n'existe pas, chez cette espèce, de variation périodique du coefficient de division* ; il n'y aurait donc pas de période de dépression, et pas de phénomènes d'endomixie.

Un résultat analogue est obtenu par T. Vieweger (1918) avec *Colpidium colpoda.* Cette espèce est cultivée dans une infusion de foin avec contrôle et repiquage journalier. A la température moyenne de 20° C, 660 générations sont obtenues en 260 jours, toujours sans conjugaison ni sénescence. Le taux de division présente au cours de cette culture quelques variations ; mais celles-ci, irrégulières, ont toujours été directement en rapport avec une variation accidentelle de la température, et Vieweger n'observe aucun signe de dépression périodique, aucun indice permettant de soupçonner un rythme endomixique.

Nous devons donc conclure que, chez ces deux espèces d'Infusoires, la multiplication est à la fois indéfinie et continue, acyclique en un mot ; et que le développement de la masse cellulaire totale issue d'un même individu en milieu supposé illimité doit suivre la loi logarithmique de Slator. On pourrait d'ailleurs supposer que les variations du taux de division ont une amplitude trop faible pour être décelées, et qu'elles ne sont pas accompagnées d'un remaniement visible comme celui qui caractérise l'endomixie ; ou bien encore, on pourrait imaginer que ces variations périodiques sont accordées sur le rythme de la division qui les masque ; mais ces hypothèses sont inutiles, et il demeure un fait certain, à savoir que parmi les Infusoires ciliés, la croissance d'une lignée cellulaire, ou de la masse totale des individus issus d'un individu souche, est indéfinie si le milieu est favorable ; mais que, suivant les espèces, elle peut être soit cyclique et discontinue, soit continue et acyclique.

La nature des espèces appartenant à chacune de ces catégories suggère une remarque : les *Glaucoma* et les *Colpidium,* Infusoires

à croissance continue, sont aussi des Infusoires à croissance et à multiplication rapide. Maupas (1888) a comparé d'une manière ingénieuse la puissance de multiplication de quelques Infusoires ciliés en prenant comme unité celle du *Glaucoma scintillans*. Il montre alors que, à température égale, si l'on mesure la puissance de division de cet Infusoire par le rapport de 1 à 1, celle de *Paramæcium caudatum* et de *P. aurelia* n'est plus mesurée que par le rapport de 1 à 5 ; pour *Stylonichia mytilus*, *Spathidium spathula*, *Gastrostyla Steinii*, cette même mesure est donnée par le rapport de 1 à 2,5.

Il apparaît alors que *toutes ces espèces, caractérisées par une multiplication lente, montrent un développement cyclique et discontinu*, avec période de dépression et endomixie.

Par contre, *Glaucoma scintillans* et *Colpidium colpoda* sont des espèces à multiplication rapide et à développement continu, acyclique. Mais la vitesse de multiplication ne serait pas le seul facteur en jeu ; d'après Maupas, la puissance de division du *Colpidium colpoda* s'exprime par le rapport de 1 à 1,7, le *Gl. scintillans* étant toujours pris comme unité ; or d'autres Infusoires ciliés présentent la même vitesse relative de multiplication ; tels sont *Stylonichia mytilus* et *Oxytricha fallax* qui, l'un comme l'autre, ont un développement discontinu, cyclique, avec des phénomènes d'endomixie bien caractérisés. Mais ces espèces, qui appartiennent à l'ordre des Hypotriches, ont une structure beaucoup plus complexe que le *Colpidium*.

En résumé, si les variations cycliques du taux de division ou du taux de croissance, sont dues à une modification lente et progressive de l'équilibre des constituants cellulaires, il semble que cette variation, ce désaccord, se manifestent plus particulièrement chez les Infusoires volumineux, à multiplication lente, ou encore à cytoplasma hautement différencié. Au contraire, les espèces d'organisation plus simple ou de dimensions plus petites et à multiplication rapide, semblent être toujours « accordées » et montrent un développement logarithmique continue.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE VI

Baitsell, 1912. Experiments on the reproduction of the hypotrichous Infusoria-I. Conjugation between closely related individuals of *Stylonychia pustulata* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XIII, p. 47).

Baitsell, 1914. II. A study of the so-called life cycle in *Oxytricha fallax* and *Pleurotricha lanceolata* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVI, p. 211).

Balbiani, 1898. Etudes sur l'action des sels sur les Infusoires (*Arch. Anat. Micr.*, t. II, p. 518).

Calkins, 1902. Studies on the life cycle of Protozoa. I. The life cycle of *Paramæcium caudatum* (*Arch. Ent. Mech.*, Bd. XV, p. 139, 186).

Calkins, 1902. III. The six hundred and twentieth generation of *Paramæcium caudatum* (*Biol. Bull.*, vol. CLI, p. 192).

Calkins, 1904. IV. Death of the A series. Conclusions (*Journ. Exp. Zool.*, vol. I, p. 423).

Calkins, 1915. Cycles and rhythms and the problem of « Immortality » in *Paramæcium* (*Amer. Nat.*, vol. LI).

Calkins, 1919. The effect of conjugation (*Proc. Soc. for Exp. Biol. and Med.*, vol. XIV, p. 57).

Calkins, 1919. *Uroleptus mobilis*. I. History of the nuclei during division and conjugation (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXVII, p. 293, 357).

Calkins, 1919. *Uroleptus mobilis*. II. Removal of vitality through conjugation (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXIX, p. 121, 155).

Calkins and Lieb, 1902. Studies on the life-history of Protozoa. II. The effect of stimuli on the life-cycle of *Paramæcium caudatum* (*Arch. f. Protistenkunde* Bd. I, p. 355).

Calkins and Gregory, 1913. Variations in the progeny of a single ex conjugant of *Paramæcium caudatum* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XV, p. 467).

Chatton (E.) et Perard (E)., 1921. Les *Nicollellidae* et le « cycle évolutif » des Ciliés (*Bull. Biol. France et Belg.*, t. LV, p. 87, 151).

Chatton (E. et Mme), 1923. La sexualité provoquée expérimentalement chez un Infusoire : *Glaucoma scintillans*. Prédominance des conditions de milieu dans son déterminisme (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXVI, p. 1091).

Daniel, 1909. Adaptation and immunity of lower organisms to ethyl alcohol (*Journ. Exp. Zool.*, vol. VI, p. 571).

Dobell, 1914. A commentary on the genetics of the ciliate Protozoa (*Journ. of Genetics*, vol. IV, n° 2, octobre 1924).

Engelmann, 1875. Onderzoekingen over Ontwikkeling en Voortpalnting van Infusoria (*Onderzoek. Phys. lab. d. Hoogeschool. Utrecht.*, vol. III).

Estabrook, 1910. The effects of chemicals on growth in *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. VIII, p. 489).

Enriques, 1903. Sulla cosa della degenerazione senile dei Protozoi (*Monitore Zool. Ital.*, vol. XIV, p. 349).

Enriques, 1905. Ancora della degenerazione senile negli Infusori (*R. C. Ac. Lincei*, t. XIV, p. 390).

Enriques, 1905. Della degenerazione senile dei Protozoi (*R. C. Ac. Lincei.*, vol. XIV, p. 351).

Enriques, 1907. La conjugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori (*Arch. j. Protistenkunde.*, Bd. IX, p. 195).

Enriques, 1908. Die Conjugation und sexuelle Differenzierung der Infusorien. II. Abhandl Wiederconjugante und Hemisexe Chilodon (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. XII, p. 213).

Enriques, 1909. La conjugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori. III. Azione dei sali sulle epidemie di conjugazione nel *Cryptochilum nigricans* (*Mem. R. Ac. Sc. Bologna.* Sér. 6., t. VI).

Enriques, 1909. La teoria di Spencer sulla divizione cellulare studiata con ricerche biometriche negli Infusori (*Arch. di Physiol.*, vol. VII).

Enriques, 1910. La conjugazione e il differenziamento sessuale. IV. Tratazione critica delle piu importanti questioni (*Mem. R. Ac. Sc. Bologna.* Sér. 6., t. VII).

Enriques, 1916. Duomila cinquecento generazioni in un Infusorio senza conjugazione ne parthenogenesi, ne depressioni (*Rendiconti. d. Sess. Ac. Sc. dell. Inst. di Bologna*, 12 mars).

Erdmann, 1913. Experimentelle Ergebnisse über die Beziehung zwischen Fortflanzung und Befruchtung bei Protozoen, besonders bei *Amaeba diploidea* (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. XXIX).

ERDMANN and WOODRUFF, 1916. The periodic reorganisation process in *Paramæcium caudatum* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XX, p. 59).

FAURÉ-FREMIET, 1922. Le cycle de croissance des colonies de Vorticellides (*Bull. Biol. France et Belg.*, t. LVI, p. 427).

FERMOR, 1913. Die Bedeutung der Encystierung bei *Stylonychia pustulata* (*Zool. Anz.*, Bd. XLI, p. 380).

GREGORY, 1909. Observations on the life history of *Tillina magna* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. VI, p. 383).

HARGITT and FRAY, 1917. The growth of *Paramæcium* in pure cultures of *Bacteria* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXII, p. 421).

HERTWIG, 1889. Ueber die Conjugation der Infusorien (*Abhandl. bayer Akad. Wiss. München.*, Bd. XVII, p. 1).

HERTWIG, 1914. Ueber Parthenogenesis der Infusorien und die Depression zustande der Protozoen (*Biol. Centr.*, Bd. XXXIV, p. 9).

HOPKINS, 1922. The conditions for conjugation in diverse races of *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXXIV, p. 339).

HUTCHISON, 1913. The specific differance among Protozoa with respect to their resistance to heat (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XV, p. 131).

JOLLOS, 1913. Experimentelle Untersuchungen an Infusorien (*Biol. Centr.*, Bd. XXXIII, p. 222).

JOUKOWSKI, 1898. Beiträge zur Frage nach den Bedingungen der Vermehrung und des Eintritts der Konjugation bei den Ciliaten (*Verhandl. naturhist. Med. Ver. Heidelberg*, Bd. VI, p. 17).

KOEHLER, 1912. Ueber die Abhangigkeit der Kernplasmarelation von der Temperatur und vom Reifezustand der Eier (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. VIII, p. 272).

KOFOID, 1923. The life cycle of the Protozoa (*Science*, p. 397).

KULAGIN, 1899. Zur Biologie der Infusorien (*Le physiologiste russe*, t. I, p. 269).

LIPSKA, 1910. Recherches sur l'influence de l'inanition chez *Paramæcium caudatum* (*Revue Suisse de Zool.*, vol. XVIII).

LOISEL, 1903. Sur la sénescence et sur la conjugaison des Protozoaires (*Zool. Anz.*, Bd. XXVI, p. 484).

MC CLENDON, 1909. Protozoan studies (*Journ. Exp. Zool.*, vol. VI, p. 265).

MAUPAS, 1888. Recherches expérimentales sur la multiplication des Infusoires ciliés (*Arch. Zool. Exp.*, t. VI, 2e série, p. 165).

MAUPAS, 1889. Le rajeunissement karyogamique chez les Ciliés (*Arch. Zool. Exp.*, t. VII, 2e série, p. 149).

MEDRKIEWICZOWNA, 1921. Le rôle de la surface libre du liquide dans le développement des cultures de *Colpodium colpoda* (*Trav. du Lab. de Phys. de l'Inst. Nencki.*, t. I, no 5).

METALNIKOW, 1919. L'immortalité des organismes unicellulaires (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XXXIII, p. 817, 835).

METALNIKOW, 1922. Dix ans de culture des Infusoires sans conjugaison (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXV, p. 776).

MOODY, 1912. Observations on the life-history of two rare ciliates, *Spathidium spathula*, and *Actinobolus radians* (*Journ. of Morph.*, vol. XXIII, p. 349).

OEHLER, 1919. Flagellaten und Ciliatenzucht auf reinem Boden (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. LX, p. 16, 26).

OEHLER, 1920. Gereinigte Ciliatenzucht (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. XLI, p. 34.)

PETERS, 1904. Metabolism and division in Protozoa (*Proc. Amer. Ac. Arts et Sc.*, vol. XXXIV, p. 441).

PETERS, 1920. Nutrition of the Protozoa. The carbon and Nitrogen needed for the growth of *Paramæcium* (*Journ. of Phys.*, vol. LIV).

PETERS, 1920. Nutrition of the Protozoa. The growth of *Paramæcium* in sterile culture medium (*Journ. of Phys.*, vol. LIII).

Phillips, 1922. The growth of *Paramæcium* in Infusion of known bacterial content (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXXVI, p. 135).

Popoff, 1907. Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtzellen der Metazoen (*Arch. f. Protistenkunde.* Suppl. I, p. 13).

Popoff, 1908. Die Gametenbildung und die Conjugation von *Carchesium polypinum L.* (*Zeitschr. wiss. Zool.*, Bd. LXXXIX, p. 478).

Popoff, 1909. Ueber den Einfluss chemischer Reagentien auf den Funktionszustand der Zelle (*S. B. Ges. f. Morph. u. Phys. München*, Bd. XXV, p. 55).

Popoff, 1909. Experimentelle Zellstudien. III. Ueber einige Ursachen der Physiologischen Depression der Zelle (*Arch. f. Zellforschung.*, Bd. IV, p. 1).

Prandl, 1906. Die Konjugation von *Didinium nasutum* (*Arch. f. Protistenk.*, Bd. VII, p. 229, 258).

Putter, 1905. Die Atmung der Protozoen (*Zeitschr. f. allg. Phys.*, Bd. V, p. 566).

Rautmann, 1909. Der Einfluss der Temperatur auf das Grössenverhältnis des Protoplasmakörpers zum Kern (*Arch. f. Zellforsch.*, Bd. IV, p. 44).

Simpson, 1901. Observations of binary fission in the life history of Ciliata (*Proc. Roy. Soc. Edeiburgh.*, vol. XXIII, p. 401).

Simpson, 1902. The relation of binary fission to variation (*Biometrica.*, vol. I, p. 400).

Slator, 1913. The rate of fermentation by browing yeart cells (*Biochem. Journ.*, vol. VII, p. 197).

Sun, 1912. Experimentelle Studien über Infusorien (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. XXVII, p. 207).

Towle, 1904. A study of the effects of certain stimuli, single and combined upon *Paramæcium* (*Amer. Journ. Phys.*, vol. XII, n° 2).

Vieweger (Th.), 1918. Les lignées continues de *Colpodium colpoda* (*C. R. Soc. des Sc., Varsovie*, Année XI, p. 611).

Vieweger (Th.), 1918. II. Les rapports entre le développement des Bactéries et des Infusoires (*C. R. Soc. Sc., Varsovie*, Année XI, p. 661).

Vieweger (Th.), 1922. L'action des produits du métabolisme dans les cultures d'Infusoires (*Trav. Lab. de Phys. Inst. M. Nencki.*, t. I, n° 12).

Vieweger et Jadwiga, 1918. Recherches sur les causes du développement des cultures de *Colpodium colpoda*. I. L'influence de la nourriture et du jeûne (*C. R. Soc. Sc. Varsovie*, Année XI, p. 847).

Viewegerowa, 1921. Recherches sur l'inanition de *Colpodium colpoda* (*Trav. Lab. Phys. de l'Inst. Nencki*, t. I, n° 9).

Viewegerowa et Vieweger, 1921. Recherches sur les causes du développement des cultures de *Colpodium colpoda*. III. L'influence de la quantité de nourriture et du jeûne (*Trav. Lab. de Phys. Inst. Nencki.*, t. I, n° 1).

Wachendorf, 1911. Der Gaswechsel von *Colpodium colpoda* (*Zeitschr. f. allg. Phys.*, Bd. XIII).

Woodruff, 1905. An experimental study on the life history of hypotrichous Infusoria (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XI, p. 585).

Woodruff, 1908. Effects of Alcohol on the life-cycle of Infusoria (*Biol. Bull.*, vol. XV, p. 85).

Woodruff, 1908. The lifec-ycle of *Paramæcium* when subjected to a varied environment (*Amer. Nat.*, vol. XLII, p. 520).

Woodruff, 1909. (*Proc. Amer. Soc. Zool. Sc.*, vol. XII, p. 425 mars).

Woodruff, 1909. Further studies on the life-cycle of *Paramæcium* (*Biol. Bull.*, vol. XVII, p. 287).

Woodruff, 1911. The effect of culture medium contamined with the excretion products of *Paramæcium* on its rate of reproduction (*Proc. Soc. Exp. Biol.*, vol. VIII, p. 100).

Woodruff, 1911. The effects of excretion products of *Paramæcium* on its rate of reproduction (*Journ. Exp. Zool.*, vol. X, p. 557).

WOODRUFF, 1911. *Paramæcium aurelia* and *Paramæcium caudatum* (*Journ. Morph.*, vol. XXII, p. 223).

WOODRUFF, 1911. Two thousand generations of *Paramæcium* (*Arch. f. Protistenk.*, Bd. XXI, p. 263).

WOODRUFF, 1911. Evidence on the adaptation of *Paramæcia* to different environments (*Biol. Bull.*, vol. XXII, p. 60).

WOODRUFF, 1912. A five-year pedigreed race of *Paramæcium* without conjugation (*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. IX, p. 121).

WOODRUFF, 1912. A summary of the results of certain physiological studies on a pedigreed race of *Paramæcium* (*Biolog. Bull.*, vol. I).

WOODRUFF, 1913. Dreitausend und dreihundert Generationen von *Paramæcium* ohne Konjugation oder künstliche Reizung (*Biol. Centralbl.*, Bd. XXXVII, p. 34).

WOODRUFF, 1913. The effect of excretion products of Infusoria on the same and on different species, with special references to the Protozoen sequences, in infusions (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XIV, p. 575).

WOODRUFF, 1913. Cell-size, nuclear size and the nucleocytoplasmic relation during the life of a pedrigred race of *Oxytrichia fallax* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XV, p. 1).

WOODRUFF, 1914. A normal periodic reorganisation process without cell-fusion in *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVII).

WOODRUFF, 1914. On so called conjugating and non conjugating races of *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVI, p. 237).

WOODRUFF, 1917. The influence of general environmental conditions on the periodicity of endomixis in *Paramæcium aurelia* (*Biol. Bull.*, vol. XXXIII p. 437, 462).

WOODRUFF, 1917. Rhythms and Endomixis in various races of *Paramæcium aurelia* (*Biol. Bull.*, vol. XXXIII, p. 51).

WOODRUFF, 1921. The structure, life history and intragenetic relationships of *Paramæcium Calkinsi* sp. nov (*Biol. Bull.*, t. XVI, p. 171, 179, 7 fig.).

WOODRUFF, 1921. The present state of the long continued pedigreed culture of *Paramæcium aurelia* at Yale University (*Proc. Nat. Ac. of Sc. Washington*, t. VII, p. 41, 44).

WOODRUFF and BAITSELL, 1911. The reproduction of *Paramæcium aurelia* in constant culture medium of beef extract (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XI, p. 135).

WOODRUFF and BAITSELL, 1911. Rhythms in the reproductive activity of Infusoria (*Journ. Exp. Zool*, vol. XI, p. 339).

WOODRUFF and BUNZELL, 1909. The relative toxicity of various salts and acids toward *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXV, p. 190).

WOODRUFF and ERDMANN, 1914. A normal periodic reorganization process without cell fusion in *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVII, p. 425, 520).

YOUNG, 1817. Experimental induction of endomixis in *Paramæcium aurelia* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXIV, p. 35, 53).

YOUNG, 1918. The relation of rhythms and Endomixis their periodicity and synchronism in *Paramæcium aurelia* (*Biol. Bull.*, vol. XXXV, p. 38).

ZWEIBAUM, 1912. La conjugaison et la différenciation sexuelle chez les Infusoires (ENRIQUES et ZWEIBAUM). V. Les conditions nécessaires et suffisantes pour la conjugaison du *Paramæcium caudatum* (*Arch. f. Protistenk.*, Bd. XXVI, p. 275).

ZWEIBAUM, 1921. Ricerche sperimentali sulla conjugazione degli Infusori. I. Influenza della conjugazione sull assorbimento dell O^2 nel *Paramæcium caudatum* (*Arch. f. Protistenk.*, Bd. XLIV, p. 99, 115).

ZWEIBAUM, 1922. Ricerche sperimentali sulla conjugazione degli Infusori. II. Influenza della conjugazione sulla produzione dei materiali di reserva nel *Paramæciu mcaudatum* (*Arch. f. Protistenk.*, Bd. XLIV, p. 375, 397).

CHAPITRE VII

La multiplication cellulaire in vitro. Culture de tissus

1. **Introduction.** — On sait que des organes entiers isolés du corps peuvent encore fonctionner un certain temps s'ils sont placés dans un milieu adéquat tel qu'un sérum physiologique, et maintenus à la température nécessaire. C'est ainsi que les contractions musculaires peuvent être étudiées *in vitro* ; on peut également, à l'aide d'une circulation artificielle, étudier le fonctionnement d'organes plus délicats que le muscle, le foie par exemple. Enfin, cette persistance des propriétés physiologiques apparaît encore si l'on isole avec précaution des fragments d'organes ou de tissus, comme l'ont montré, pour ne citer que quelques noms, Harrisson, Legendre, Marinesco.

Dans tous les cas, l'organe ou les fragments tissulaires extraits d'un organisme restent en « survie » pendant un temps qui peut varier de quelques heures à quelques jours et qui est limité par les conditions expérimentales.

Jolly (1903) a pu conserver à l'état de « survie » pendant 8 à 15 jours des cellules isolées, telles que des globules rouges de Triton ; il observe en même temps quelques divisions mitotiques ; il se produit donc, dans ce cas, un accroissement propre, aux dépens des substances contenues dans le milieu, des cellules conservées *in vitro*, accroissement qui leur permet de se diviser, et cette expérience remarquable démontre que l'on peut *cultiver* des éléments cellulaires en dehors de l'organisme dans lequel ils se sont formés.

Jolly (1910-1911) vérifie ce résultat de diverses manières ; il aspire dans des pipettes stériles le sang du cœur de Tritons ou de Grenouilles, puis après avoir scellé les pipettes, il les conserve à la glacière ; après 15 mois, l'examen du sang ainsi conservé montre encore des leucocytes mobiles, dont les mouvements pseudopodiques sont normaux ; mais ces cellules ne se divisent pas ; il y a *survie* de la cellule conservée *in vitro* pendant plus d'une année, mais il n'y a pas *culture*.

Le même auteur isole aseptiquement des fragments de moelle osseuse de Cobaye et de Grenouille qu'il place dans le sérum sanguin de ces animaux, et conserve à la température du laboratoire en ce qui

concerne la Grenouille ; à 37° dans le cas du Cobaye ; après vingt-quatre et quarante-huit heures, il observe non seulement la survie des myélocytes, mais encore leur multiplication mitotique ; JOLLY réalise donc une culture de cellules *in vitro*.

On trouvera dans la revue publiée par OPPEL (1913) la bibliographie complète des premiers travaux relatifs à la survie des tissus en dehors de l'organisme, ainsi qu'aux premières tentatives de culture de cellules *in vitro*. Une technique particulière a été créée grâce aux travaux de HARRISON et surtout de BURROWS MONTROSE (1910 et 1911), de CARREL et BURROWS (1910-1913) puis de CARREL (1911-1913) ; le principe de la méthode employée et perfectionnée peu à peu par ces auteurs est le suivant : un fragment de tissu prélevé aseptiquement est placé dans une goutte de plasma à la face inférieure du couvre-objet qui ferme une petite chambre humide ; le fragment est bientôt enrobé par un coagulum fibrineux, et celles de ses cellules qui s'accroissent et se multiplient forment autour de lui-même une « zone d'invasion » dont on prélève un fragment que l'on place dans une goutte nouvelle de plasma ; la culture se multiplie ainsi par la croissance et la multiplication cellulaire que l'on entretient par des repiquages successifs.

2. Résultats obtenus. — EBELING publie en 1922 une note intitulée : *une culture de fibroblastes agée de* 10 *ans*. Cette culture avait été commencée le 17 février 1912 à partir d'un cœur d'embryon de Poulet ; le 17 février 1922, les étuves du laboratoire contenaient soixante cultures provenant du même fragment initial et représentant à raison de un repiquage effectué toutes les quarante-huit heures environ, plus de 1860 générations cellulaires.

Après douze années de culture, CARREL et EBELING (1924) montrent que la croissance des fragments repiqués est toujours aussi rapide ; chacun double son propre volume en 48 heures ; l'apparence des cellules ne s'est pas modifiée, et les fibroblastes sont demeurés typiques ; les divisions mitotiques sont parfaitement normales, et ces constatations, appuyées dans le mémoire de 1922 par une remarquable série de micro-photographies, demeurent exactes aujourd'hui.

Deux conclusions se dégagent aussitôt d'un tel résultat :

1° il y a bien *culture* de tissu et les fibroblastes *cultivés in vitro* transforment en protoplasma les substances utilisables du milieu ;

2° la puissance de multiplication d'une cellule conjonctive isolée d'un organisme embryonnaire est indéfinie, c'est-à-dire qu'elle dépend non point d'un « potentiel initial » limité, mais des conditions actuelles du milieu dans lequel elle est transplantée.

Ces conclusions avaient été entrevues dès les premières expériences de Jolly. Mais Harrison les considérait encore en 1913 comme prématurées, tant que la durée d'une culture *in vitro* n'aurait pas atteint et dépassé la durée normale de la vie de l'organisme ayant fourni les éléments souches de la culture. En 1921 Pearl remarquait que la plus longue durée de vie pour une Poule ne dépasse guère dix années, et en 1922 la réserve prudente de Harrison était tombée.

Ebeling compare les cultures de fibroblastes du Rocquefeller Institut aux longues cultures d'Infusoires de Woodruff ; il insiste d'autre part sur l'importance biologique de la culture *in vitro*, à l'état pur, d'éléments cellulaires appartenant à des animaux supérieurs, qui ouvre un champ nouveau à l'étude expérimentale de la cellule vivante. Mais pour que ce résultat soit atteint, il faut connaître aussi complètement que possible les conditions nécessaires à la culture *in vitro*, et il est indispensable de posséder un élément de comparaison, c'est-à-dire une mesure de l'activité de la croissance cellulaire.

Fig. 58. — Fibroblastes dans la zone de croissance d'une culture *in vitro* d'après G. Levi.

Ebeling (1921) étudie les méthodes permettant de mesurer cette activité. La méthode pondérale serait évidemment la plus précise pour mesurer l'accroissement total de la masse cellulaire mise en culture, mais les pesées sont rendues impossibles ou tout au moins très difficiles, par la présence nécessaire du coagulum fibrineux dans lequel s'infiltrent les cellules nouvellement formées.

La numération des cellules a été envisagée ; mais les fragments de culture repiqués ont toujours une épaisseur correspondant à plusieurs couches de cellules superposées et le dénombrement des

éléments cellulaires est irréalisable même approximativement.

Après une longue étude des conditions et des détails de technique, souvent très délicats, qui permettent d'obtenir des cultures comparables, Ebeling admet que l'on peut tenir pour constante l'*épaisseur* des masses cellulaires repiquées, et estimer l'accroissement de celles-ci par une simple mesure de surface, l'approximation donnée par cette méthode étant largement suffisante. Pour chaque culture, on mesure la surface initiale du fragment repiqué, et la surface qu'il atteint après 48 heures. Cette mesure peut être effectuée de diverses manières ; on peut, par exemple, dessiner à la chambre claire le contour initial et le contour final, et mesurer au planimètre les surfaces correspondantes. On calcule ensuite avec les chiffres obtenus deux valeurs caractéristiques : l'*accroissement absolu*, c'est-à-dire la différence entre la surface initiale S_0 et la surface finale S_1, soit la différence $S_1 - S_0$ et l'accroissement relatif, soit le rapport $\frac{S_1}{S_0}$.

Les mesures effectuées sur une série de 32 repiquages obtenus avec une culture de fibroblastes âgée de neuf ans montrent que, dans des conditions identiques de milieu et de température, le taux de croissance calculé d'après l'augmentation de surface a varié de moins de 6 % dans 25 cas, et de 6 à 7 % dans 7 cas ; on peut donc considérer l'estimation comme suffisamment précise pour démontrer, dans ce cas, la constance du taux de croissance.

Une nouvelle conclusion apparaît maintenant : comme les cultures ne montrent aucun signe de variation, et comme le taux de l'accroissement est constant, on doit admettre que *la croissance des cellules isolées de l'organisme est continue et ne présente aucun caractère cyclique.* On reviendra plus loin sur ce fait très important.

Les recherches précédentes ont été effectuées sur des cellules conjonctives, mais le fibroblaste (1) n'est pas le seul élément que l'on ait pu cultiver à l'état pur.

Holmes (1913 et 1914) cultive les cellules épidermiques de larves d'Amphibiens en étalant des lambeaux cutanés sur un mélange à parties égales de gélatine à 2 % et de sérum sanguin de l'animal adulte. Les cellules épidermiques de l'embryon de *Dyemyctylus* se différencient *in vitro* et l'on voit apparaître les différents types de cellules qui caractérisent l'épiderme de ce Batracien aux stades larvaires plus avancés. Des fragments d'épiderme de Batraciens adultes peuvent aussi être mis en culture, mais leur croissance est sensiblement plus lente.

(1) Ou plutôt la cellule conjonctive embryonnaire non encore différenciée en fibroblaste.

Fischer (1922) cultive pendant plus de trois mois le tissu épithélial pavimenteux provenant de l'iris embryonnaire du Poulet dans sa partie adhérant au cristallin ; il constate que les cellules conservent leur caractéristique propre et se multiplient rapidement ; chaque culture double sa surface en trois ou quatre jours.

Le même auteur cultive des fragments du cartilage sclérotique de l'œil embryonnaire du Poulet pendant trois mois. La croissance initiale du cartilage se fait en surface, et débute par la disparition de la substance hyaline ; cette disparition met en liberté de petites cellules du type lymphocytiforme, qui émigrent à la surface de la goutte de plasma et grossissent ; ces éléments deviennent ensuite plus ou moins fusiformes et leur cytoplasma se vacuolise ; ils contiennent des grains de ségrégation colorables par le rouge neutre analogues à ceux des cellules rhagiocrines de Renaut. Ces cellules fusiformes restent au contact les unes des autres et forment de fines membranes à la manière des éléments épithéliaux. Leur taux de croissance est plus faible que celui des fibroblastes ou des éléments épithéliaux.

Lewis et Webster (1921) mettent en culture des nodules lymphoïdes et observent une émigration fractionnée des éléments cellulaires qui permet d'isoler à l'état pur plusieurs catégories de cellules ; en effet, 2 à 3 heures après la mise en culture du nodule, les lymphocytes émigrent dans le sérum ; les cellules endothéliales apparaissent entre 24 et 48 heures ; enfin, après 48 heures, les fibroblastes pénètrent à leur tour dans la zone d'invasion.

Carrel et Ebeling (1922) cultivent à l'état pur de grands leucocytes mononucléaires (monocytes de Nägel, histiocytes du sang de Aschoff et Kiyono, ou hémomacrophages de Metschnikoff) après que les leucocytes éosinophiles ou pseudo-éosinophiles ont disparu au cours de deux ou trois repiquages.

La culture des grands mononucléaires reste active pendant trois mois, mais avec un taux de multiplication assez bas ; ces cellules amiboïdes, plus sensibles que les fibroblastes, s'assemblent tout d'abord en chaînes, puis s'écartent les unes des autres et se transforment en éléments fusiformes ou étoilés munis de longs prolongements ; elles ressemblent alors à des fibroblastes et montrent une tendance à former de véritables tissus. En 1912, Carrel avait déjà constaté la transformation *in vitro* de cellules amiboïdes en fibroblastes dans des cultures pures, et trouvait ainsi une vérification expérimentale des idées émises à ce sujet par J. Renaut ; Maximoff (1916) aurait vu, lui aussi, le début de cette transformation.

3. **Conditions nécessaires pour la culture des cellules in vitro.** — Cinq conditions semblent absolument nécessaires à l'obtention des

cultures de cellules *in vitro* ; il faut, en effet : un *support*, un *milieu favorable*, un *aliment utilisable*, de l'*oxygène*, enfin un *renouvellement* fréquent du milieu réalisé, dans la technique courante, par le repiquage.

a) *Support.* — Certaines cellules peuvent être cultivées sur une plaque de gélatine ou de gélose à la surface de laquelle elles s'étendent en nappe ; c'est le cas des cellules épidermiques de Batraciens cultivées par Holmes (1913-1914). Rappelons à ce sujet que Mouton (1922) a cultivé des Amibes sur gélose et que ce milieu a été utilisé depuis par quelques auteurs, pour les Protozoaires rampants ou peu mobiles. Mais beaucoup d'éléments cellulaires ne peuvent s'accommoder d'un tel support.

Harrison (1910) plaçait de petits morceaux d'embryons de Grenouille dans une goutte de lymphe du même animal adulte ; la coagulation de la lymphe emprisonne le fragment dans un fin réseau qui sert de support aux cellules nouvellement formées. Burrows (1911) a adapté la technique de Harrison aux tissus embryonnaires de Poulet, en remplaçant la lymphe par le plasma de Poulet qui se coagule autour du fragment de tissu embryonnnaire, créant ainsi l'essentiel de la méthode utilisée par Carrel et ses collaborateurs.

Harrison (1914) montre que le réseau constitué par le coagulum de fibrine constitue un support tout particulièrement favorable pour la cellule conjonctive, dont il étudie le thigmotactisme en présence de conditions mécaniques variées. Il observe d'ailleurs différents aspects des fibroblastes qui dépendent de la structure du réseau fibrineux. Levi (1919) obtient la formation du réseau en partant non du plasma, mais d'une solution de fibrinogène ; il étudie également l'influence des conditions mécaniques réalisées par ce réseau ; Ebeling (1921) analyse encore les données de ce problème auquel L. Loeb (1922) consacre un important travail.

b) *Milieux de culture.* — Le milieu de culture généralement employé est le sérum sanguin prélevé chez un organisme adulte de l'espèce animale qui a donné le fragment de tissu mis en culture.

Dans les expériences de Holmes (1913-1914) ce sérum est ajouté à de la gélatine ; dans la technique de Burrows et de Carrel qui utilise le plasma, le sérum devient, après la coagulation de la fibrine, le milieu liquide de culture qui baigne le support réticulé. Ces auteurs et leurs collaborateurs ajoutent d'ailleurs du sérum à la préparation.

W. et M. Lewis (1915) remplacent le sérum animal par un liquide physiologique tel que les sérums de Ringer, de Locke ou des variantes de ceux-ci. Ces liquides artificiels, et particulièrement le liquide de Tyrode, ont été utilisés avec succès par différents expérimentateurs.

G. Levi (1919) montre que de légères différences entre la concentration moléculaire du sérum de culture et du sérum normal de l'animal dont les cellules sont cultivées ne modifie guère les processus de multiplication cellulaire. Par contre, la réaction du milieu liquide exerce une certaine influence ; A. Fischer (1921) montre que l'optimum de la vitesse de croissance des cellules *in vitro* est réalisé dans un sérum de pH 7,4 à 7,8, bien que les fibroblastes puissent résister à des variations comprises entre pH 5,5 et pH 8,5.

Kroutovski et Radzimovska (1922) constatent que les fibroblastes sont plus résistants à une augmentation de la concentration en ions H (diminution du pH) que les autres cellules.

Enfin Mlle Mendeleeff (1923) a fait de nombreuses expériences de culture de peau embryonnaire de Cobaye dans du sérum homologue dont le pH avait été abaissé au préalable par des injections de protéine hétérogène. Le maximum de croissance a été obtenu pour pH = 5,2 à 6,6. D'autres cultures faites en sérums hétérogènes se sont bien conservées pour un pH de 6,6 tandis qu'elles se sont détruites par autolyse pour un pH 7,8 (1).

Poursuivant ses recherches en les étendant au cas du développement embryonnaire proprement dit, cet auteur a trouvé qu'il existe une différence constante entre le pH du sérum sanguin maternel et celui du sérum sanguin de l'embryon, ou en général des liquides embryonnaires, qui est toujours inférieur.

c) *Aliment.* — Les cellules conservées *in vitro* en plasma coagulé ne se multiplient pas indéfiniment, et les cultures s'éteignent après quelques repiquages. Burrows interprète ce fait général en supposant que, dans un fragment de tissu mis en culture, les cellules qui se multiplient se nourrissent aux dépens de celles qui dégénèrent ; la croissance des cellules qui émigrent dans la zone d'invasion ne représenterait ainsi qu'un déplacement de substances provenant des cellules demeurées dans le « transplant », et lorsque la culture s'éteint, la masse totale des cellules néoformées serait inférieure à la masse initiale du transplant. En d'autres termes, le plasma n'apporterait aucun élément nutritif utilisable et à ce point de vue, le sérum animal, ou les sérums artificiels utilisés par M. et W. Lewis seraient équivalents.

Carrel et Ebeling, et Ebeling ont publié en 1919 les résultats de leurs observations sur l'influence du « jus de tissu embryonnaire » ; ce liquide est préparé, après broyage d'un embryon de même espèce

(1) Un sérum acidifié par l'addition de $HCl\frac{N}{10}$ jusqu'à *p*H = 6,6 n'a pas donné les mêmes résultats, et de nombreuses cellules se sont détruites.

que celui qui a donné le transplant, par centrifugation du magma obtenu ; toutes ces manipulations étant faites aseptiquement, il suffit d'ajouter un peu du liquide séparé au sérum constituant le milieu de culture pour que la multiplication cellulaire se poursuive indéfiniment *in vitro*.

Carrel et Ebeling (1921) étudient dans une série d'expériences quelle est l'origine des substances alimentaires utilisées par les cellules pendant leur croissance *in vitro*. Ces expériences sont faites à partir d'une culture de fibroblastes âgée de neuf ans, et les diverses cultures obtenues dans des conditions variées sont comparées au point de vue du taux d'accroissement par la méthode de Ebeling citée plus haut.

Carrel et Ebeling étudient d'abord l'influence de la concentration du sérum. Celui-ci est préparé à partir du sang d'un Poulet de deux ans maintenu au jeûne pendant 24 heures ; il est conservé dans des tubes de verre Pyrex ou de verre paraffiné, et son pH est déterminé ; enfin ce sérum est dilué en diverses proportions avec la solution de Tyrode et stérilisé par filtration.

Des suspensions de fibrinogène dans la liqueur de Tyrode sont préparées d'autre part ; elles donnent de bons coagulums de fibrine mais les fibroblastes provenant de vieilles cultures liquéfient très rapidement ces coagulums si l'on n'ajoute pas une trace de sérum.

La proportion du sérum organique peut varier dans le milieu de culture entre 2,37 et 95 % sans modifier le taux de croissance ; celui-ci diminue d'ailleurs progressivement dans tous les cas et les cultures s'éteignent toutes après le sixième ou le septième passage.

Les auteurs concluent de ces faits que le sérum est nécessaire à une dose inférieure à 2,3 % du liquide de culture ; mais il sert uniquement, en aussi faible proportion, à empêcher la liquéfaction du substratum fibrineux, et il demeure tout à fait improbable que ses protéines soient utilisables par la cellule en voie de croissance, puisque de grandes variations de son taux ne modifient ni l'activité de la multiplication cellulaire, ni le ralentissement fatal de cette activité.

En d'autres termes, *le sérum n'apporte aucune substance alimentaire* aux cellules cultivées *in vitro*.

Des résultats identiques sont obtenus avec le plasma de Poulet adulte qui se coagule spontanément au contact d'une vieille culture de fibroblastes ; le taux de croissance diminue progressivement et la mort apparaît après quelques repiquages. L'influence de diverses substances azotées a été récemment (1923) examinée par ces mêmes auteurs ; dans un milieu dépourvu d'azote, une culture pure de fibroblastes se maintient au plus une huitaine de jours. L'addition de blanc ou de jaune d'œuf au milieu détermine temporairement une légère

activité, mais on peut conclure que les fibroblastes n'utilisent pas l'albumine d'œuf.

Carrel et Ebeling constatent par contre que si l'on cultive un fragment de cœur embryonnaire, le taux de croissance commence par augmenter ; puis il diminue progressivement et les cultures s'éteignent seulement après 10 à 13 repiquages. *Le tissu cardiaque initial contiendrait donc une substance utilisable* qui s'épuise rapidement. L'interprétation de Burrows (p. 296) est donc vérifiée par ces expériences plus précises, et par celles de Carrel (1923) sur l'« énergie résiduelle de croissance » des fibroblastes provenant de tissus embryonnaires.

Etudiant après l'action du sérum celle du « jus de tissus embryonnaire », Carrel et Ebeling imaginent deux hypothèses : *a*) le jus embryonnaire rend utilisables des substances contenues dans le sérum ou dans la fibrine ; ou *b*) le jus embryonnaire contient le matériel alimentaire indispensable à la croissance des cellules.

Deux expériences permettent d'éliminer la première hypothèse :

Des fibroblastes sont cultivés dans des milieux constitués par du fibrinogène, du jus de tissus, et du sérum en proportion variant de 0,10 % à 70 %. La croissance des cellules restant identique dans ces trois cas, il est évident que les protéines du sérum ne jouent aucun rôle même en présence du jus embryonnaire.

Des fibroblastes sont cultivés sur un coagulum de fibrine préalablement fixé au formol, puis lavé dans du liquide de Ringer et imbibé finalement de jus embryonnaire. La croissance des fibroblastes atteignant le même taux que dans un coagulum de fibrine fraîche, on doit admettre que cette substance ne peut jouer d'autre rôle, même en présence de jus de tissus, que celui de substratum, ou de support mécanique.

Dans ces conditions, Carrel et Ebeling préparent des cultures de fibroblastes dans des milieux dont la teneur en sérum et en fibrine reste invariable, tandis que la teneur en jus embryonnaire varie ; ils enregistrent alors des différences considérables dans la valeur du taux de croissance, et constatent que celui-ci augmente de 10 à 80 % quand la teneur du milieu en jus embryonnaire augmente de 0 à 10 %. Par contre, lorsque la teneur en jus embryonnaire dépasse 40 % le taux de croissance n'augmente plus, comme si une limite était atteinte. Cinquante-cinq expériences diverses vérifient ces faits et permettent aux auteurs de dresser la courbe des variations du taux de croissance en fonction de la teneur du milieu en jus embryonnaire. La seconde hypothèse est donc vérifiée, et l'on peut admettre que le *jus de tissu est directement utilisable par les cellules en voie de croissance in vitro.* Par conséquent, si une culture commencée à partir d'un frag-

ment de tissu embryonnaire peut se poursuivre plus longtemps en milieu plasma qu'une culture commencée avec des fibroblastes purs de souche ancienne, c'est qu'une substance utilisable est entraînée par le fragment de tissu en quantité limitée, et que celle-ci s'épuise progressivement. En l'absence de jus de tissus embryonnaire, l'interprétation de Burrows est exacte et s'applique tout particulièrement aux cultures des Lewis faites en sérum artificiel.

La conclusion de ces recherches délicates est que le jus de tissu embryonnaire renferme un aliment X, le seul, jusqu'à présent, qui puisse être utilisé par les cellules cultivées *in vitro* (1). Carrel et Ebeling (1923) montrent que le jus embryonnaire peut être hétérologue, c'est-à-dire que des fibroblastes de Poulet par exemple, se cultivent avec le même taux de croissance dans un milieu addtitionné d'extraits d'embryons broyés de Souris, de Cobaye ou de Lapin.

Mlle Mendeleeff (1923) a précisé un fait important relatif au jus de tissu embryonnaire ; le jus de tissu étant injecté dans la veine d'un Cobaye adulte, le plasma obtenu à partir du sang de cet animal saigné quelques minutes après la seconde injection a été employé comme substratum pour des cultures de tissu embryonnaire qui se sont montrées extrêmement actives. Répétant ces expériences en injectant au Cobaye adulte fournisseur de plasma soit du jus d'un embryon préalablement privé de son foie, soit le jus obtenu avec du foie embryonnaire seulement, l'auteur a constaté que l'aliment X, dénommé provisoirement « tréphone » par Carrel et Ebeling, peut être localisé dans le foie embryonnaire.

De nouvelles recherches de Carrel et Ebeling (1923) semblent orienter l'étude de l'aliment X contenu dans l'extrait de tissu embryonnaire vers une direction nouvelle ; ces auteurs montrent en effet que, à l'inverse des fibroblastes, certaines cellules, lymphocytes et grands mononucléaires, pourraient vivre, s'accroître et se multiplier dans le sérum sanguin. Ces cellules seraient donc capables d'utiliser directement les substances azotées du sérum ; elles pourraient même sécréter dans ce cas des substances utilisables par les fibroblastes et comparables en conséquence à l'aliment X de l'embryon.

Dustin (1924) rapproche du pouvoir particulier de ces « tréphocytes », le fait que, d'après ses recherches (et celles de J. Jolly), les cellules thymiques et les lymphocytes contribueraient, en accumulant des nucléoprotéides, à la régulation des nucléines de l'organisme.

Enfin Drew et ces mêmes auteurs ont précisé quelques-unes des

(1) Ebeling (1924) a essayé sans succès toute une série d'acides aminés, qu'il ajoute au sérum, seuls ou groupés de diverses manières. Les essais tentés avec de l'albumine ou du vitellus d'œuf n'ont pas non plus donné la possibilité d'*alimenter* les cellules cultivées *in-vitro*.

conditions de destruction des « tréphones » : agitation, température supérieure à 65°, action du radium, etc.

d) *Présence d'oxygène.* — La technique de Burrows-Carrel ne permet la culture de cellules *in vitro* que dans une petite quantité de plasma placé en goutte pendante dans une chambre humide. Cette condition indique la nécessité du contact de l'oxygène atmosphérique. Les recherches de L. Loeb (1912), celles de Champy, etc., montrent des phénomènes de dégénérescence, et d'histolyse dans la zone centrale ou profonde des fragments de tissus mis en culture, c'est-à-dire dans les points où l'oxygène parvient difficilement. et prouvent que la croissance des cellules ne peut s'effectuer en l'absence de ce corps.

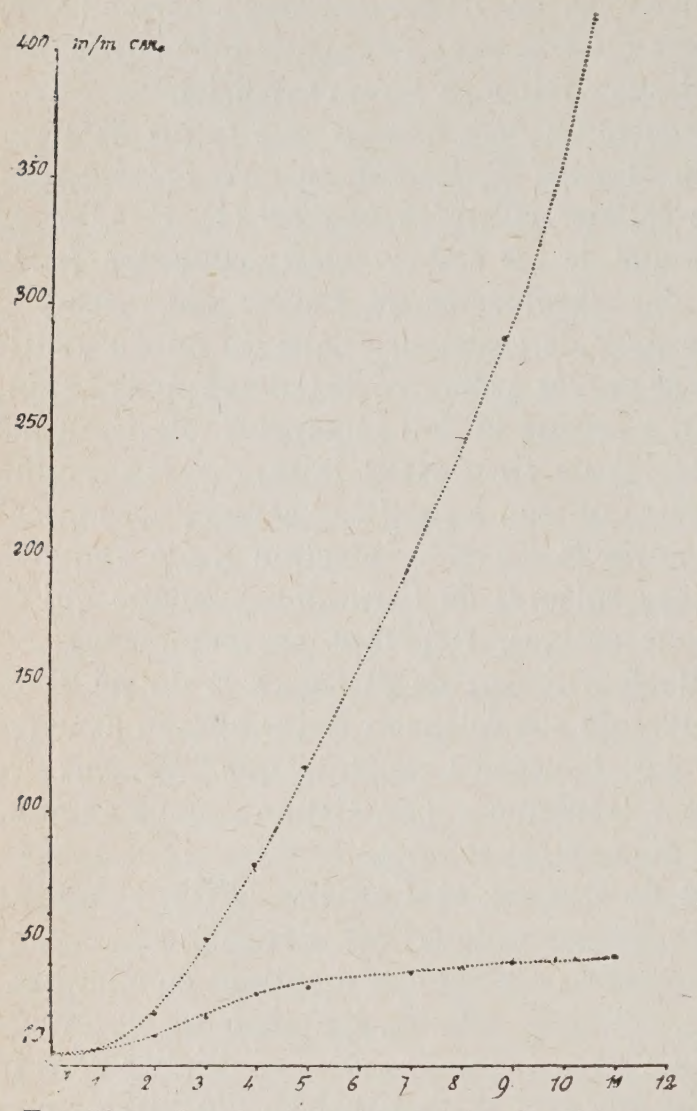


Fig. 59. — Courbe de croissance des fibroblastes cultivés *in vitro*, d'après Carrel et Ebeling.

Courbe inférieure : culture sans aliment. Courbe supérieure : culture avec aliment (tréphones embryonnaires). Temps comptés en jours. Croissance mesurée en surface.

e) *Renouvellement du milieu.* — Dès 1911, Carrel augmentait la durée des premières cultures par des lavages fréquents au liquide de Ringer faits dans le but d'entraîner les déchets du métabolisme ; cette méthode a été remplacée avantageusement par le repiquage des éléments de la zone d'invasion dans un milieu frais effectué de quarante-huit heures en quarante-huit heures.

Plus récemment, Carrel (1923) a employé une nouvelle technique qui permet de renouveler aseptiquement le milieu liquide sans pratiquer le repiquage des éléments cultivés dont la croissance peut être étudiée pendant quelques semaines.

L'ensemble des cinq conditions examinées ci-dessus est suffisant

pour obtenir la multiplication indéfinie des cellules conjonctives. Carrel et Ebeling calculent que leur culture de fibroblastes âgée de 10 ans aurait donné une masse de cellules beaucoup plus grosse que le globe terrestre si, au lieu d'entretenir quelques lignées, on avait pu cultiver la totalité des cellules produites. Un Coq âgé de 10 ans n'atteint pourtant qu'une taille limitée, infiniment petite par rapport à une telle masse, et le problème de la limite de croissance des organismes se pose d'une manière nouvelle devant les propriétés du jus de tissus embryonnaires.

Maïs on peut calculer que, au cours du développement embryonnaire lui-même, le taux de croissance des fibroblastes est certainement plus faible in vivo que *in vitro*. Ceci nous amène à étudier les modifications subies par la cellule vivante lorsqu'on l'extrait de l'organisme pour la cultiver *in vitro*.

4. **Modifications cellulaires caractéristiques de la culture in vitro.** — a) *Modifications immédiates observées dans le « transplant ».* — Champy (1912-1914) a fait une étude méthodique, sur des coupes en séries de « transplants » à différents stades de leur évolution, des modifications subies par un fragment de tissu isolé de l'organisme dans les conditions requises pour la culture *in vitro*. On distingue rapidement trois zones caractéristiques dans le fragment enrobé par le coagulum fibrineux ; la région centrale et profonde, ou *zone asphyxique*, montre des phénomènes de dégénérescence cellulaire comparables à ceux observés par Launoy (1904 à 1908) au cours de l'autolyse aseptique de certains tissus ; la région périphérique est la *zone fertile* dans laquelle les éléments cellulaires demeurés normaux deviennent mobiles, en pénétrant dans le plasma coagulé où ils se multiplient ; ces éléments constituent la troisième zone, extérieure au « transplant », ou *zone d'invasion*.

G. Levi (1919) montre que la formation d'une zone asphyxique ne dépend que de la grosseur du « transplant » et peut être supprimée si celui-ci est de petite taille ; dans un fragment de tissu de 1/10e de millimètre, toutes les cellules qui n'ont pas été directement lésées par section ou par arrachement entrent en activité ; d'ailleurs, Carrel a pu observer pendant un mois les battements d'un cœur embryonnaire conservé *in vitro*, et Levi conclut que, avec une bonne technique, la totalité du fragment de tissu isolé peut être considérée comme formant une zone fertile.

La disposition des cellules à la limite de la zone fertile et du milieu est particulière ; les éléments s'allongent parallèlement à la surface du transplant, traçant ainsi une limite très précise entre le fragment isolé et la zone d'invasion ; cette disposition s'explique, d'après Levi,

par la pression mécanique que la rétraction du coagulum fibrineux exerce sur la surface du transplant.

b) *Modifications immédiates subies par les cellules dans la zone d'invasion.* — Les éléments cellulaires émigrent de la zone fertile dans la zone d'invasion suivant une direction perpendiculaire à la surface du transplant ; elles s'allongent et poussent de longs pseudopodes dans le sens de leur déplacement ; diverses raisons ont été envisagées pour expliquer cette émigration centrifuge : chimiotropisme négatif à l'égard de l'acide carbonique ou des produits de désassimilation, thigmotactisme, etc... Nous retiendrons seulement ici que ces éléments cellulaires subissent, au moment où ils se séparent du fragment initial pour entrer dans le milieu de culture, des modifications caractéristiques que Levi analyse en détail. Levi constate en effet : 1° que les divisions mitotiques sont beaucoup plus nombreuses parmi les cellules de la zone d'invasion que parmi les éléments demeurés dans la zone fertile ; 2° que les cellules émigrées dans le plasma coagulé, et caractérisées déjà par l'accroissement de leur pouvoir de multiplication, subissent des modifications morphologiques ; en passant du transplant dans le milieu de culture, les cellules se gonflent et deviennent plus claires ; la surface de leur masse protoplasmique augmente de ce fait en même temps que ses propriétés varient et que des pseudopodes mobiles apparaissent.

Ce gonflement *est un phénomène essentiel*, qui exprime une augmentation de l'imbibition cellulaire, un accroissement de la teneur en eau des colloïdes protoplasmiques.

Les observations de Maximoff (1913), W. et M. Lewis (1914-1915), M. Lewis et W. Roberston (1916), Macklin (1917), faites sur les cellules cultivées *in vitro* et examinées *in vivo* ont déjà donné d'intéressants résultats. Levi (1916 et 1919) reprend cette étude en comparant les cellules demeurées dans la zone fertile aux cellules émigrées dans la zone d'invasion.

Les cellules demeurées en place dans le tissu sont réfringentes, et leur chondriome est formé d'éléments immobiles ; le protoplasma de ces cellules serait dans un état semi-rigide, tout à fait analogue à l'état de « gel » observé par Chambers (1917-1918) avec la méthode de microdissection chez divers éléments histologiques fixes, particulièrement chez les fibroblastes. D'après Levi les mitochondries sont constituées, elles aussi, par des colloïdes à l'état de gelée, mais plus dense, ou plus exactement, moins hydratée que la gelée constituant la substance fondamentale du cytoplasma. Il n'existe d'ailleurs qu'une faible différence entre les indices de réfraction de ces colloïdes, et le chondriome est peu visible *in vivo* dans la cellule demeurée *in situ*.

Les cellules observées dans la zone d'invasion sont au contraire

plus transparentes ; la réfringence du cytoplasma a diminué, et de ce fait les mitochondries sont mieux visibles à l'état vivant. Or, la réfringence des colloïdes est dans une certaine mesure (Isaacs 1916) proportionnelle à leur concentration, et l'on peut conclure que la substance fondamentale du cytoplasma s'est diluée, ce qui revient à dire qu'elle absorbe de l'eau. L'étude des caractères cytologiques vérifie donc la conclusion que Levi tirait déjà de l'augmentation de volume, du gonflement de la cellule lors de son passage dans le milieu de culture.

L'hydratation du cytoplasma change son état physico-chimique ; ses colloïdes ne sont plus à l'état de « gel » et passeraient à l'état de « suspension » ; le chondriome est mobile ; la surface cellulaire est fluide, et forme des pseudopodes. Mais cette transformation est parfaitement réversible tant que la cellule est vivante, et peut être obtenue dans diverses conditions, en faisant varier la température par exemple. En refroidissant une culture de cellule à + 15 ou 20° pendant une heure ou deux, Levi constate que les mouvements intracellulaires s'arrêtent tandis que les pseudopodes se rétractent, que le volume cellulaire diminue et que le chondriome devient peu visible au milieu d'un cytoplasma grenu ; si la culture est remise à la température normale de 37°, la transformation inverse se réalise à nouveau.

On a vu dans les premiers chapitres que les conditions d'équilibre physico-chimiques du protoplasma, considéré comme un système hétérogène, sont influencées par de nombreux facteurs et Levi rappelle, à propos des changements d'état qui viennent d'être décrits, les recherches expérimentales de Fauré-Fremiet sur différents Infusoires.

Le noyau participe lui aussi au gonflement de la cellule émigrée dans le milieu de culture ; il apparaît comme une grosse vésicule elliptique, transparente, homogène, mais sa réfringence diminue moins nettement que celle du cytoplasma, et Levi constate qu'il s'hydrate moins que le cytoplasma.

Enfin toutes les cellules ne s'imbibent pas de la même manière, et tandis que les unes deviennent fusiformes, d'autres deviennent multipolaires ou lamellaires.

c) *Résultats du gonflement de la cellule in vitro.* — Si l'augmentation de l'imbibition de la cellule porte inégalement sur le cytoplasma et sur le noyau, la relation nucléoplasmique doit changer de ce fait. D'après les observations de Levi, le gonflement relatif du cytoplasma est plus grand que celui du noyau, de sorte que le rapport $\frac{N}{P}$ diminue.

Une cellule émigrée du tissu initial dans le milieu de culture est donc amenée rapidement, par les modifications physico-chimiques qu'elle subit, vers l'état de tension nucléoplasmique qui précède et *détermine*,

d'après Hertwig, les premiers phénomènes de la division. En même temps la semi-rigidité du cytoplasma disparaît, ce qui permet les changements d'état préliminaires du processus mitotique, ainsi que la formation ultérieure de masses gélifiées (astrosphères d'après les travaux de Chambers). Dès lors, si, comme l'indiquent les calculs de Ebeling et Carrel, les cellules cultivées *in vitro* possèdent un pouvoir de multiplication supérieur à celui des cellules de même espèce, demeurées en place dans l'organisme, il semble que la transformation initiale due au passage des cellules dans le milieu de culture, soit bien l'augmentation de l'imbibition protoplasmique mise en lumière par Levi.

d) *Conditions déterminant l'augmentation de l'imbibition cellulaire.* — On pourrait supposer qu'une légère différence entre les concentrations actives des liquides de l'organisme et du sérum du milieu de culture soit la cause immédiate du gonflement des cellules cultivées *in vitro*. Levi montre qu'il n'en est rien, car le gonflement se produit non seulement dans un sérum exactement isotonique aux liquides de l'organisme, mais encore dans un sérum légèrement hypertonique ; d'autre part, ce gonflement n'est pas accentué de manière sensible par l'emploi de sérum dilué.

Fischer (1910) suppose, étant donné l'action des acides faibles sur certains gels, qu'une légère accumulation d'acide carbonique peut augmenter l'imbibition du cytoplasma ; l'action des variations du pH des liquides organiques sur la cellule cultivée *in vitro* serait à étudier à ce point de vue.

Rappelons ici que les facteurs réglant l'imbibition protoplasmique sont nombreux ; avant de préciser la cause immédiate du gonflement cellulaire réalisé par la culture *in vitro*, on pourrait encore chercher par exemple dans quelle mesure le coefficient lipocytique de Mayer et Schaeffer peut être modifié par ces conditions nouvelles, ou dans quelle mesure la proportion normale des cathions mono- et bivalents peut être conservée dans le milieu de culture.

D'ailleurs, le gonflement initial lié à un accroissement du pouvoir de multiplication n'est pas particulier aux cellules cultivées *in vitro*, et ces deux phénomènes peuvent apparaître d'une manière typique au cours des « réactions » conjonctives ou épithéliales qui, à la suite d'un traumatisme ou d'une inflammation, tendent sinon à reconstituer la région lésée, du moins à combler les pertes de substance produites. Policard (1918) et Nageotte (1922) ont comparé à juste titre les processus conjonctifs de la cicatrisation et la culture des fibroblastes en plasma coagulé ; les exemples suivants montreront l'identité des phénomènes dans des cas différents.

α *Hémorragies.* — Les expériences de Ranvier (1897 et 1898) montrent

le rôle important de la fibrine au cours des phénomènes de cicatrisation proprement dite ; une section étant pratiquée normalement à la surface du tégument, le sang répandu par les vaisseaux rompus se coagule entre les deux lèvres de la plaie et la rétraction du caillot de fibrine assure leur coaptation (formation des fibres synaptiques de Ranvier transformées bientôt en « hyaline »). Dans les heures qui suivent sa formation, ce caillot de fibrine est pénétré par des leucocytes polynucléaires ; puis, ultérieurement, des fibroblastes émigrent des régions conjonctives de chaque lèvre de la plaie et s'insinuent dans le réticulum fibrineux comme dans la zone d'invasion d'une culture (voir Policard et Nageotte). Un autre cas typique est fourni par les lésions pulmonaires d'alvéolite végétante consécutives à un œdème fibrineux ou hémorragique localisé ; le caillot formé dans la cavité de l'alvéole et d'abord pénétré par les leucocytes polynucléaires se rétracte et forme une masse pédiculée ; celle-ci est infiltrée ultérieurement par des fibroblastes émigrés de la paroi interalvéolaire, qui transforment le caillot en un nodule conjonctif secondairement vascularisé et entouré de cellules épithéliales. Les lésions dues aux gaz de combat ont montré de fréquents exemples de ces lésions (Guieysse et Fauré-Fremiet (1920), Letulle (1918), etc.).

β « *Greffes mortes* ». — Lacoste (1913), Bonnefon et Lacoste (1913) et Bonnefon (1914) ont étudié le sort des tissus constituant le greffon dans les greffes hétéroplastiques de la cornée; en choisissant l'animal porte-greffe et celui donnant le greffon en sorte que leurs éléments cellulaires respectifs diffèrent suffisamment, par la taille et l'aspect de leurs noyaux, pour être facilement reconnus et suivis au cours du processus de cicatrisation, ces auteurs constatent que l'épithélium du greffon reste normal, tandis que son tissu conjonctif subit d'importantes transformations.

Les fibroblastes du tissu transplanté dégénèrent et disparaissent, mais la trame collagène persiste, un certain temps tout au moins. Peu à peu, cette charpente conjonctive étrangère est pénétrée par des fibroblastes qui la réorganisent entièrement ; comme le caillot de fibrine et les fibres synaptiques des expériences de Ranvier, cette trame collagène sert uniquement de vecteur et de support aux cellules actives provenant des tissus voisins.

Ce fait très important est la base de la technique des « greffes mortes » ; Nageotte (1919) montre que le support conjonctif greffé n'a pas besoin d'être vivant ; il peut avoir été conservé au préalable dans le formol ou l'alcool, et des fragments de tendons préparés de cette manière sont pénétrés, réhabités et réorganisés par les fibroblastes de l'hôte, exactement comme la trame conjonctive du greffon cornéen dans les expériences de Lacoste et de Bonnefon.

Dans tous ces cas de greffes hétéroplastiques, ou de greffes mortes, comme dans ceux de cicatrisation après coaptation des lèvres de la plaie, le caillot de fibrine ou le fragment de trame conjonctive frais ou préalablement fixé, se comportent par rapport au tissu conjonctif environnant comme le coagulum fibrineux des cultures de tissu *in vitro*. Imbibé par le sérum exsudé des tissus environnants, *ils servent de support aux fibroblastes qui les pénètrent par un processus identique à celui que l'on observe dans la zone d'invasion des cultures.*

γ *Inflammations.* — Des phénomènes analogues se retrouvent au

Fig. 60. — Cellules conjonctives hypertrophiées dans un œdème dermique profond obtenu chez le Cheval par un composé vésicant.

cours des processus inflammatoires les plus variés ; mais ceux-ci permettent de saisir plus facilement les modifications initiales subies par les cellules « réagissantes ». Renault et Dubreuil (1909), expérimentant sur l'épiploon du Lapin, ont déterminé les étapes successives de la réaction conjonctive en présence de corps étrangers neutres ou irritants, et d'invasions bactériennes (Bac. tuberculeux) ; ils ont montré les diverses phases de la mobilisation des cellules fixes, de leur multiplication mitotique, et de leur retour à l'activité sécrétoire.

Etudiant l'anatomie pathologique des inflammations cutanées, Rubens Duval (1908, page 173) écrit : « Au cours d'un état phlegmasique aigu, tandis que les cellules conjonctives indifférenciées se multiplient activement et se répandent dans tous les interstices conjonctifs, prêtes à évoluer suivant les nécessités de la défense de

l'organisme, les cellules différenciées tendent au contraire à perdre leurs caractères différentiels...

... Les fibroblastes s'hypertrophient dans la portion indifférenciée de leur cytoplasma qui devient basophile et nettement apparente. Ils résorbent le collagène qu'ils avaient sécrété et s'incorporent au réseau des cellules anastomotiques, ou bien, abandonnant le faisceau conjonctif avec lequel ils étaient en continuité de substance, ils desquament, et libres de toutes attaches, se mêlent à la foule des cellules migratrices. »

Dominici (1920) décrit, en donnant de très belles figures, l'hypertrophie des cellules conjonctives fixes, fibroblastes ou cellules endothéliales vasculaires, dans des conditions expérimentales analogues à celles réalisées par Renaut et Dubreuil, c'est-à-dire après injection de Bacille d'Eberth, dans l'épiploon du Lapin. L'identité de cette « hypertrophie » qui accompagne la mobilisation, et précède la division cellulaire, avec le « gonflement », l'augmentation d'imbibition, décrit par Levi comme la modification initiale d'une cellule cultivée *in vitro*, ne saurait faire aucun doute (1). Ces trois modifications étroitement liées des cellules con-

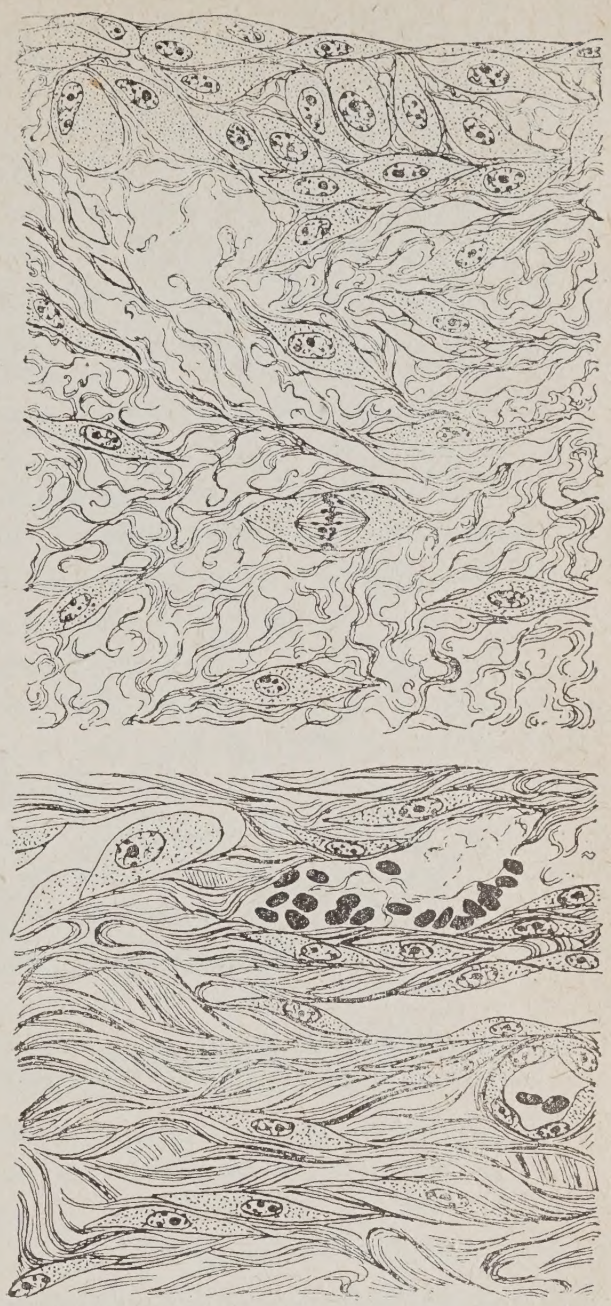


Fig. 61. — Prolifération de fibroblastes hypertrophiés au niveau d'un abcès de fixation térébenthinique ponctionné. En haut, couche limitante entourant la cavité intradermique actuellement vidée de toute trace de pus et devenue presque virtuelle. Les filbroblastes hypertrophiés constituent une pseudoséreuse ; en profondeur on observe encore des divisions mitotiques dans la trame collagène œdématiée. En bas une région plus profonde de la même préparation, montrant la structure normale du derme et les proportions ordinaires des fibroblastes (Chien).

(1) Voir Strangeways, 1924.

jonctives fixes : mobilisation et gonflement, puis multiplication, se retrouvent encore de manière typique (fig. 61) dans la zone inflammatoire ou post-inflammatoire résultant de la présence dans le derme d'une enclave irritante (pétrole, essence de térébenthine, etc., voir Fauré-Fremiet et du Vivier de Streel 1920).

δ *Tissu de bourgeonnement.* — Un dernier exemple de culture de cellules conjonctives *in vivo* peut être donné par l'organisation du tissu de bourgeonnement à la surface d'une plaie importante ; que

Fig. 62. — Emigration des fibroblastes à partir du périthélium vasculaire dans le tissu de bourgeonnement d'une plaie en voie de cicatrisation.

Comparer avec la zone de croissance d'une culture.

cette organisation se réalise à l'abri d'un pansement aseptique, ou bien au-dessous d'un coagulum hémorragique ou de tissus sphacélés, on observe toujours (fig. 62) l'émigration des fibroblastes y partir des périthéliums vasculaires, leur gonflement dans une tramule conjonctive œdématiée, puis leur multiplication (Policard 1918, Fauré-Fremiet et Pfulb 1918). On doit remarquer enfin que la mobilisation, le gonflement et la multiplication peuvent s'observer non seulement sur les cellules conjonctives, mais aussi sur les cellules épithéliales.

ε *Conditions communes aux différents cas examinés.* — Un traumatisme, la présence d'un corps étranger neutre ou irritant, celle d'un agent bactérien, peuvent exercer une action directe, immédiate, sur les cellules environnantes ; mais cette action devrait varier suivant chaque cas et produire des effets divers et multiples. Tout au

contraire, les réactions cellulaires observées dans de telles conditions, comme dans celles de la culture *in vitro*, semblent identiques. C'est que des mécanismes très différents peuvent déterminer, d'une manière indirecte cette fois, des conditions analogues ; et dans les cas envisagés, l'une de ces conditions est la suppression ou la perturbation de la circulation locale. Les lésions ou les inflammations précitées déterminent toujours des obstructions vasculaires par thrombose à la suite de sectionnement, cisaillement, arrachement plus ou moins étendus (traumatismes), ou de coagulation (brûlures par la chaleur ou par des caustiques), ou encore d'altération des endothéliums, de stase sanguine, etc. (inflammations et infections bactériennes). De toute manière, le réseau vasculaire demeuré sain est turgide, et la congestion locale s'accompagne d'une transsudation séreuse, ou sérofibrineuse ou même hémorragique, inondant la trame conjonctive environnante, dont les faisceaux collagènes et les fibres élastiques se trouvent plus ou moins dissociés.

Cette inondation du tissu conjonctif, cet œdème local dont les caractères peuvent être très variés, suivant la nature du transsudat et son abondance, détermine, par un effet de distension, une modification des rapports intercellulaires, et sous l'effet de ces lésions secondaires, les éléments tels que les fibroblastes se trouvent dans une situation comparable à celle que leur offre la technique des cultures cellulaires *in vitro* ; dans l'un et l'autre cas, le milieu satisfait aux trois conditions suivantes :

1° absence de circulation sanguine, que celle-ci soit bloquée du fait des lésions, ou supprimée par l'excision d'un fragment conservé *in vitro* ;

2° présence d'un réseau fibrineux ou collagène, constituant un support pénétrable pour les cellules devenues mobiles ;

3° milieu liquide constitué par du sérum.

Le gonflement et la prolifération mitotique des cellules conjonctives et épithéliales sont souvent d'autant plus accentués que l'œdème interstitiel est plus développé ; tel est le cas des réactions épithéliales de l'alvéole pulmonaire observées soit au cours d'un œdème cardiaque (Honnorat 1887, etc.), soit au cours d'un œdème déterminé par l'inhalation de gaz suffocants (Guieysse, Fauré-Fremiet, etc., 1920) ; ou bien encore des proliférations conjonctives observées dans les œdèmes sous-cutanés (fig. 60), dues aux brûlures par gaz vésicants (ypérite) et dont l'aspect histologique rappelle celui de certains éléphantiasis (1).

(1) Dans le cas d'un œdème expérimental provoqué chez le Rat par la ligature d'un membre à sa racine, Morel (1923) observe les cellules conjonctives plus ou moins boursouflées et hypertrophiées dans toutes leurs dimensions, mais il ne signale pas de division.

Une question se pose maintenant ; pourquoi le sérum extravasé au cours d'un œdème local, comme le sérum résultant de la coagulation du plasma dans la technique ordinaire des cultures *in vitro* augmentent ils l'imbibition des cellules qu'ils renferment ? Outre que le problème est certainement compliqué du fait de l'absence de circulation, on doit remarquer par exemple que d'après les recherches de Mayer et Morel (1919), le transsudat d'un œdème pulmonaire n'a plus la même composition que le sérum sanguin normal ; et que, d'après des recherches récentes, la composition d'un sérum conservé *in vitro* se modifie rapidement.

5. **Conclusions.** — L'ensemble des recherches effectuées sur les cultures cellulaires *in vitro* permet d'affirmer que, dans certaines conditions expérimentales, les cellules des Vertébrés ont une puissance de multiplication indéfinie ; cette conclusion s'applique surtout aux cellules conjonctives des Vertébrés homéothermes. Mais cette puissance indéfinie de multiplication ne peut se manifester que si l'on réalise une modification de l'état physico-chimique normal de cette cellule se traduisant :

1° par une augmentation de son degré d'imbibition ;

2° par une modification concomitante de sa caractéristique nucléoplasmique $\frac{N}{P}$, qui diminue (1) et se rapproche de l'état de « tension », prélude de la division cellulaire.

On sait que très fréquemment les formations néoplasiques, dont les cellules ont un pouvoir de multiplication considérable, montrent des éléments hypertrophiés, chez lesquels le rapport nucléoplasmique normal est fortement perturbé (Sokoloff 1922). L'étude des cultures de cellules *in vitro* se situe au point de jonction de l'étude du développement cellulaire normal, et du développement cellulaire hyperplasique.

Les modifications initiales subies par la cellule au début de sa culture *in vitro* sont en rapport avec un autre phénomène bien connu en anatomie pathologique, la « dédifférenciation » dont, Champy a étudié les diverses étapes au cours de la culture des tissus de différents organes.

Pernant a souvent insisté sur le fait que la « dédifférenciation » apparaît souvent de manière temporaire au moment de la division d'une cellule spécialisée ; cette dédifférenciation a été étudiée en

(1) Cette varation du rapport $\frac{N}{P}$ pouvant n'avoir en elle même aucune valeur absolue et n'être que le symptôme d'un ensemble de modifications de l'état interne de la cellule.

détail par Lund (1917) dans un cas exceptionnellement favorable, celui de la division d'un Infusoire cilié de grande taille hautement organisé : la *Bursaria truncatella* ; Lund considère ce phénomène comme l'expression de la « réversibilité des processus morphogéniques ». Il apparaît ainsi, en dehors même du cadre de l'anatomie pathologique, que la dédifférenciation est un processus fréquent, nullement particulier aux cultures de cellules *in vitro*. Probablement en rapport avec le gonflement initial de la cellule cultivée, ce processus ne peut pas être considéré comme obligatoire ; il suffit en effet de rappeler l'exemple du cœur embryonnaire de Poulet qui, dans une expérience de Carrel, a battu pendant un mois ; les épithéliums tégumentaires d'embryons de Batraciens, qui dans les cultures de Holmes (1914) sur gélatine, se différencient peu à peu ; l'épiderme de Souris embryonnaire qui, dans les cultures de Drew (1922), subit un début de kératinisation ; enfin les myoblastes d'embryon de Poulet dans lesquels Levi (1919) voit se constituer *in vitro* des myofibrilles.

Ebeling insiste avec raison sur l'importance biologique de la méthode des cultures cellulaires *in vitro*, qui permet d'aborder directement l'étude de différents problèmes de morphogenèse et d'histophysiologie. Champy a montré que deux tissus coexistants dans une même culture, tissu épithélial et tissu conjonctif par exemple, constituent un « système antagoniste » dont les éléments ne se dédifférencient pas. Levi critique l'interprétation de Champy. Le terme de « système complexe » lui semble plus explicite et plus exact que celui de système antagoniste, et il pense que les expériences citées se rapportent plutôt à des cas de « survie » qu'à des cultures proprement dites. Même si cette critique est justifiée, le fait observé par Champy demeure très important, et Thomson (1913) ainsi que Fischer (1922) ont étudié de semblables « systèmes complexes » constitués par des fragments d'organes embryonnaires, évoluant *in vitro* ; ces auteurs ont constaté que ces complexes possédaient une limite de taille, et leur étude permet de supposer l'existence d'actions intertissulaires dont l'étude expérimentale sera fructueuse.

Ebeling et Fischer (1922) ont cultivé côte à côte des lignées pures de fibroblastes et de cellules épithéliales. Celles-ci gardent respectivement leurs caractères spécifiques morphologiques et histochimiques. La dédifférenciation ne se manifeste donc point, même après deux mois. La croissance des éléments épithéliaux est plus rapidement influencée par la nature du milieu que celle des fibroblastes. Lorsque les cultures mixtes sont effectuées à l'aide de vieilles cultures épithéliales, on observe la formation d'un complexe comportant des cordons ou des tubes épithéliaux (rappelant d'une manière typique une structure glandulaire simple) développés à travers le réseau

des fibroblastes. Drew (1923) a reproduit de semblables aspects.

Les expériences de Brachet (1912) et de Whorter (1912) qui ont obtenu, pendant la survie *in vitro* de vésicules blastodermiques de Lapin, le développement du trophoblaste et des villosités choriales, se rattachent directement, elles aussi, au problème de la morphogenèse des systèmes complexes.

La méthode des cultures de cellules a permis encore d'aborder par une voie nouvelle un important problème de l'ontogenèse : l'influence de l'*âge* d'un être organisé sur les propriétés de ses éléments constituants (1).

Il est remarquable de constater que *les seules cultures indéfinies de cellules normales ont été obtenues jusqu'ici à partir de tissus embryonnaires et ne peuvent être maintenues qu'à l'aide du « jus de tissus embryonnaires »*.

De nombreux auteurs, et Champy en particulier, ont bien cultivé des tissus provenant d'organismes adultes, mais seulement pendant un temps limité, et en constatant des phénomènes de dédifférenciation ; ces expériences se rapprocheraient donc plutôt des cas de « survie » que des cas de « culture » proprement dite.

Drew (1922) cultive dans un liquide constitué par du sérum artificiel additionné de « jus d'embryon » des fragments de tissus normaux ou cancéreux de Rat et de Souris, et ses expériences le conduisent aux conclusions suivantes :

1° la multiplication des cellules embryonnaires est indéfinie, comme dans les cultures de Carrel et de Ebeling ;

2° la multiplication et la culture de cellules de tissus adultes est impossible ou tout au moins très difficile ; *mais, dans les cas très rares où cette culture réussit, la multiplication cellulaire continue* indéfiniment.

3° les cultures de sarcome montrent que la cellule cancéreuse sécrète des produits toxiques qui entraînent rapidement l'autolyse de la culture ; mais si l'on réussit à éviter cette action, *la culture se continue comme dans le cas de cellules embryonnaires*. Le stroma d'une tumeur se comporte lui aussi comme un tissu embryonnaire et favorise le développement des cellules cancéreuses.

Enfin les cellules cancéreuses se dédifférencient moins que les cellules normales, comme si elles étaient déjà dédifférenciées, déjà isolées de l'organisme ; c'est précisément une des conclusions formulées par Champy (1921).

Il apparaît donc qu'une cellule normale perd son pouvoir de multiplication à mesure que l'âge de l'organisme auquel elle appartient aug-

(1) Cette influence de l'âge se manifeste dans les phénomènes de cicatrisation, comme le montre l'importance du facteur *i* de l'équation de Lecomte du Noüy (page 239).

mente, tandis qu'une cellule cancéreuse revient vers l'état embryonnaire.

Carrel et Ebeling (1921) cherchent à analyser l'influence de l'âge de l'organisme sur la cellule normale en cultivant des fibroblastes en présence de plasma « homologue » provenant d'animaux d'âges différents ; ils constatent que le *taux de croissance varie en raison inverse de l'âge du plasma constituant le milieu de culture.*

Comme la nature du coagulum fibrineux n'influence pas le taux de multiplication, ces curieuses expériences montrent que le sérum d'un organisme se modifie en même temps que celui-ci évolue et vieillit, et deux hypothèses peuvent être faites : ou bien il existe dans le sérum du jeune organisme un facteur accélérateur de la croissance qui diminue pendant la durée de la vie, ou bien au cours de cette même durée un facteur inhibiteur se développe dans le sérum ; les expériences de Carrel et Ebeling (1923 et 1924) permettent d'envisager la première hypothèse, ou peut-être même les deux à la fois.

Il résulte de cet ensemble de recherches que la multiplication indéfinie de certaines cellules isolées de l'organisme est possible dans certaines conditions ; si celles-ci sont réalisées, la croissance d'une lignée cellulaire est continue et caractérisée par un coefficient constant ; la croissance d'un ensemble de cellules à partir d'un élément initial obéit donc à la loi de Slator et non point à la loi cyclique de Robertson. Carrel (1923) a pu déterminer, grâce à sa nouvelle méthode de cultures en milieux renouvelés, la courbe de croissance de fibroblastes et de cellules épithéliales *in vitro* (fig. 59, p. 300). Dans un milieu non nutritif (en l'absence de jus de tissu embryonnaire) cette courbe de croissance est en forme d'S ; elle semble donc suivre la loi de Robertson, mais elle exprime seulement l'activité résiduelle de croissance des éléments mis en culture. Au contraire, dans les conditions nutritives qui permettent une multiplication indéfinie, la courbe de croissance est une parabole analogue à celle prévue par la loi de Slator.

En résumé, la multiplication et la croissance de la cellule conjonctive se ramènent au cas de la multiplication et de la croissance des Infusoires de petite taille et peu différenciés, dont les lignées se perpétuent suivant un taux constant, sans présenter aucun phénomène périodique de dépression. Cependant, pour obtenir un tel résultat, il ne suffit pas de soustraire l'élément cultivé *in vitro* à l'influence des autres constituants de l'organisme dont l'ensemble développe peu à peu un facteur Y inconnu d'arrêt. Une condition indéterminée est encore nécessaire : la présence d'une substance X que l'on peut considérer comme un aliment, et que les expérimentateurs n'ont encore trouvée que dans les tissus embryonnaires.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE VII

Pour la bibliographie plus détaillée des cultures de tissus, consulter Oppel (1913), G. Levi (1922 et 1923), R. Erdmann (1922).

Baitsell, 1915. The origin and structure of a fibrous tissue which appears in living cultures of adulte Frog tissues (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXII).

Bonnefon, 1914. Nouvelles recherches expérimentales sur la kératoplastie (*Arch. Ophtalmologie*, mars-avril 1914).

Bonnefon, 1917. Etude des greffes cornéennes. Introduction à l'étude expérimentale du problème biologique des transplantations de tissus vivants (*Lyon Chirurgical*, septembre-octobre).

Bonnefon et Lacoste, 1913. Recherches histologiques sur la greffe autoplastique (*Arch. d'Ophtalm.*, mai-juin).

Bonnefon et Lacoste, 1913. Contribution à l'étude expérimentale de la transplantation de la cornée (*Gaz. hebd. des Sc. Med.*, Bordeaux, novembre).

Brachet, 1912. Développement *in vitro* de blastoderme et de jeunes embryons de Mammifères (*C. R. Ac. Sc.*, Paris, t. CLV).

Burrows (Montrose), 1910. Culture des tissus d'embryon de Poulet et, spécialement cultures de nerfs de Poulet en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 291).

Burrows (Montrose), 1911. The growth of tissues of the Chick embryo outside the animal body with special reference to the nervous system (*Journ. of Exp. Zool.*, vol. X).

Burrows (Montrose), 1913 (*Proc. Amer. Congr. Phys. et Surg.*).

Burrows (Montrose), 1917. Some factors regulating growth (*Proc. Amer. Ass. of Anat., Session* 33, *Anat. Record.*, vol. XI).

Burrows and Rons, 1913 (*Journ. Exp. Med.*, vol. XVIII).

Burrows and Weymann, 1917 (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXV, p. 93).

Carrel, 1912. On the permanent life of tissues outside of the organism (*Journ. Exp. Med.*, t. XV, p. 516).

Carrel, 1912. Pure culture of cells (*Journ. Exp. Med.*, t. XVI, p. 165).

Carrel, 1913. Artificial activation of the growth *in vitro* of connective tissue (*Journ. Exp. Med.*, t. XVII, p. 14).

Carrel, 1913. (*Journ. Exp. Med.*, t. XVIII, p. 287).

Carrel, 1914. Present conditions of a two years old strain of connective tissue (*Journ. Exp. Med.*, t. XX, p. 1).

Carrel, 1921. Cicatrisation of wounds. II. Factors initiating regeneration (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, p. 425).

Carrel, 1922. Growth promoting function of leucocytes (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 385).

Carrel 1923. Les cultures pures de cellules en physiologie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 972).

Carrel, 1923. Measurement of the inherent growth energy of tissues (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVIII, p. 521).

Carrel, 1923. A method for the physiological study of tissues *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVIII, p. 407).

Carrel, 1923. Nouvelle technique pour la culture des tissus (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, n° 33, p. 1017).

Carrel (A.), 1924. Rôle des tréphones leucocytaires. (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 29).

Carrel (A.), 1924. Effet d'un abcès sur la cicatrisation d'une plaie aseptique. (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 333).

Carrel et Burrows (Montrose), 1910. La culture des tissus adultes en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 293).

Carrel et Burrows (Montrose), 1910. Cultures de sarcome en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 332).

Carrel et Burrows (Montrose), 1911. A propos des cultures *in vitro* des tissus des Mammifères (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 3).

Carrel and Burrows (Montrose), 1911. On the physicochemical regulation of the growth of tissues (*Journ. Exp. Med.*, vol. XIII, n° 4, p. 2).

Carrel and Burrows (Montrose), 1911. An addition to the technique of the cultivation of tissues *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XIV, n° 3).

Carrel and Ebeling, 1921. Age and multiplication of fibroblasts (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, p. 599).

Carrel and Ebeling, 1921. The multiplication of fibroblast *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, n° 4, p. 317).

Carrel and Ebeling, 1922. Pure cultures of large mononuclear leucocytes (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 365).

Carrel and Ebeling, 1922. Heat and growth inhibiting action of serum (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXV, p. 647).

Carrel and Ebeling, 1922. Action of shaken serum on homologous fibroblasts (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 399).

Carrel and Ebeling, 1923. Action of fibroblasts of extracts of homologous and heterologous (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXVIII, p. 499).

Carrel and Ebeling, 1923. Antagonistic growth principles of serum and the irrelation to old age (*Journ. Exp. Med.* vol. XXXVIII, p. 419).

Carrel et Ebeling, 1923. Survie et croissance des tissus *in vitro* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, n° 35, p. 1144).

Carrel et Ebeling, 1923. Tréphones embryonnaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, n° 35, p. 1142).

Carrel et Ebeling, 1923. Tréphones leucocytaires et leur origine (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, n° 37, p. 1266).

Carrel et Ebeling, 1923. Action du sérum sanguin sur les lymphocytes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, n° 37, p. 1261).

Carrel et Ebeling, 1924. Indice de croissance du sérum sanguin. *C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 170.

Carrel et Ebeling, 1924. Mécanisme de l'action du sérum sur les fibroblastes pendant la vieillesse (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 172).

Carrel et Ebeling, 1924. Au sujet d'une famille de fibroblastes se multipliant *in vitro* depuis 12 ans (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 410).

Carrel and Lecomte du Noüy, 1921. Cicatrisation of wounds. XI. Periode latente (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXIV, p. 339).

Chafei Hanan, 1917. Les mitochondries dans le cancer (*Thèse Méd.* Paris, chez Jouve).

Chambers, 1918. Report on results obtained from the microdissection of certain cells (*Roy. Soc. of Canada*, série 3, vol. XXII).

Champy, 1912. Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. Tissus épithéliaux et tissus glandulaires (*C. R. Soc. Biol.*, juin).

Champy, 1913. La dédifférenciation des tissus cultivés en dehors de l'organisme (*Bibliographie Anatomique*).

Champy, 1913. La survie et les cultures de tissus en dehors de l'organisme (*Le Mouvement Médical*).

Champy, 1913. Réapparition de la prolifération active dans des tissus d'animaux adultes cultivés en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol*).

Champy, 1914. Notes de Biologie cytologique I. Généralités (*Arch. de Zool. Exp.*, t. LIII).

Champy, 1914. Notes de Biologie cellulaire. II. Le muscle lisse (*Arch. de Zool. Exp.*, t. LIII, p. 42).

Champy, 1914. Notes de Biologie cytologique. III. Le rein (*Arch. Zool. Exp.*, t. LIV, p. 308).

Champy, 1914. Notes de Biologie cytologique. Quelques résultats de la méthode de culture des tissus. IV. La rétine (*Arch. de Zool. Exp.*, t. LIII).

Champy, 1914. Cultures de cancer *in vitro* (En collab. avec F. Coca) (*C. R. Soc. Biol.*).

Champy, 1914. Cultures de tissus en milieux étrangers. Cultures de cancers. Différences entre les phénomènes observés dans les cultures et ceux observés dans les greffes (*C. R. Ac. Sc.*).

Champy, 1915. Notes de Biologie. V. La glande thyroïde (*Arch. de Zool. Exp.*, t. LV, p. 61).

Champy, 1920. Notes de Biologie VI. Le testicule (*Arch. de Zool. Exp.*, t. LX, p. 461).

Champy, 1921. Perte de la sécrétion spécifique dans les cellules cultivées *in vitro* (*C. R. Soc. Biol.*).

Champy, 1922. L'action de l'extrait thyroïdien sur la multiplication cellulaire (*Arch. de Morph. Génér. et Exp.*, fasc. 4).

Clowes et Smith, 1922. CO^2 comme inhibant la croissance cellulaire (*Journ. Biol. Chem.*, t. L, *Proc. Amer. Soc. Biol. Chem.*, t. IV).

Congdon, 1915. The identification of tissues in artificial cultures (*Anat. Record.*, vol. IX).

Darier (1920), *Anatomie pathologique de la peau. Pratique dermatologique* (Paris).

Dominici, 1920. Etudes sur le tissu conjonctif et les organes hématopoiétiques des Mammifères. I. Tissu conjonctif en général (*Arch. Anat. micr.*, t. XVII).

Dominici, 1920. Etudes sur le tissu conjonctif, etc. II. Inflammation du tissu conjonctif (*Arch. Anat. micr.*, t. XVII).

Dominici, 1920. Etudes sur le tissu conjonctif, etc... III. Modifications des organes hématopoiétiques (*Arch. Anat. micr.*, t. XVII).

Drew, 1922. A comparative study of normal and malignant tissues growth in artificial culture (*British Journ. of Exp. Path.*, vol. CXI, p. 20).

Drew, 1923. Growth and differenciation in tissue cultures (*Brit. Journ. of exper. pathol.*, vol. IV, p. 46).

Drew, 1923. Three lectures on the cultivation of tissues and tumours *in vitro* (*Univ. Collège. London Lancet*, avril, p. 785, 833).

Dustin, 1924. A propos des « tréphocytes » de Carrel et Ebeling (*C. R., Soc. de Biologie.*, t. XC, p. 371.

Ebeling, 1913. The permanent life of connective tissue outside the organisme (*Journ. Exp. Med.*, t. XVII, p. 275).

Ebeling, 1919. (*Journ. Exp. Med.*, t. XXX, p. 532, 533).

Ebeling, 1921. Fibrin and serum as a culture medium (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXIII, p. 641).

Ebeling, 1921. Measurement of the growth of tissues *in vitro*. (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXIV, n° 3, p. 231, 243).

Ebeling, 1922. A ten year old strain of fibroblasts (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXV, p. 755).

Ebeling, 1922. Cicatrisation of wounds. XIII. The temperature coefficient (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXV, p. 657).

Ebeling, 1924. Action des acides aminés sur la croissance des fibroblastes (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC. p. 31).

Ebeling, 1924. Cultures pures d'épithélium proliférant *in vitro* depuis 18 mois (*C. R. Soc. de Biologie*, t. XC, p. 562.

Ebeling and Fischer, 1922. Mixed cultures of pure strains of fibroblasts and epithelial cells (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 285).

Erdmann (Rhoda), 1922. *Praktikum der Gewebeflege oder Explantation besonders der Gewebezüchtung*. Berlin, Springer, édit.

Fauré-Fremiet et Pfulb, 1917. Etude clinique et histologique sur la cicatrisation des brûlures sous les pansements isolants à base de paraffine (*Arch. de Med. Exp.*, t. XXVIII, p. 15).

Fauré-Fremiet et du Vivier de Streel, 1920. Etude sur les abcès provoqués par injections de substances non septiques. Méthode de diagnostic (*Ann. d'Hyg. et de Med. Légale*).

Fauré-Fremiet et Guieysse-Pellissier, 1920. Lésions pulmonaires déterminées par les gaz suffocants (*C. R. Ac. Sc*).

Fauré-Fremiet, 1920. Action de différents composés chimiques sur la cellule pulmonaire (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1344).

Fauré-Fremiet, Guieysse-Pellissier, Plantefol et A. Mayer, 1920. Lésions pulmonaires déterminées par les corps vésicants (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 1532).

Fischer (Martin), 1910. *Das Œdem. Eine experimentelle und theoretische Untersuchung der Physiologie und Pathologie der Wasserbindung im Organismus* (Dresden).

Fischer (Albert), 1921. Growth of fibroblasts and hydrogen ion concentration in the medium (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIV, p. 447, 454).

Fischer (A.), 1922. Action of antigen on fibroblasts *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXV, p. 661) et (II. *Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 535).

Fischer (A.), 1922. A three month old strain of Epithelium (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXV, p. 367).

Fischer (A.), 1922. A pure strain of Cartilage Cells *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 379).

Fischer (A.), 1922. Culture of organized tissues (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXVI, p. 393).

Fischer (A.), 1923. Contribution to the biology of tissue cells (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXVIII, p. 667.)

Fischer (A.), 1924. The interaction of two fragments of pulsating heart tissue. (*Journ. of Exper. Med.* vol. XXXIX, p. 577).

Fischer (A.), 1924. The differentiation and keratinization of epithelium *in vitro*. (*Journ. of Exp. Med.*, vol. XXXIX, p. 585).

Fischer (A.), 1925. Beitrag zur Biologie der Gewebezellen (*Arch. f. mikroskop. Anat. und Entwickl. mech.*, Bd. CIV, p. 210).

Foot N. Chandler, 1913. The growth of chicken bone marrow and its bearing on hematogenesis in adult life (*Journ. Exp. Med.*, vol. XVII, p. 43).

Giroud, 1921. Observations sur la cicatrisation épithéliale et musculaire (*Arch. Anat. micr.*, t. XVIII, fasc. 1, p. 55).

Guieysse-Pellissier, 1923. Recherches expérimentales sur le poumon (*Arch. Anat. micr.*, t. XIX, p. 159, 210).

Harrisson Ross., 1906-1907. Observations on the living developing nerve fiber (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, vol. IV, p. 140).

Harrisson Ross., 1908. Embryonic transplantation and development of the nervous system (*Anat. Rec.*, vol. II, n° 9).

Harrisson Ross., 1912. The cultivation of tissues in extraneous media as a method of morphogenetic study (*Anat. Record.*, vol. VI n° 4, p. 181, 193).

Harrisson Ross., 1913. (*Trav. Congr. Amer. Phys. and Surg.*).

Harrisson Ross., 1914. The reaction of embryonic cells to solid structures (*Journ. of Exp. Zool.*, vol. XVII, p. 521).

Hogue, 1919. The effect of hypotonic and hypertonic solutions on fibroblasts of the embryonic and Chick heart *in vitro* (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXX, p. 617).

Holmes, 1913. Behavior of ectodermic epithelium of tadpoles when cultivated in plasma (*Univ. California. Zool.*, vol. II, p. 155).

Holmes, 1914. The behavior of the epidermis of Amphibians when cultivated outside the body (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVII, p. 281).

HONNORAT, 1887. *Processus histologiques de l'œdème pulmonaire d'origine cardiaque* (*Thèse* Paris, Baillère).

INGEBRIGTSEN, 1912. Studies upon the charakteristics of different culture media and their influence upon the growth of tissues outside of the organism (*Journ. Exp. Med.*, vol. XVI, p. 421).

ISAACS, 1916. Properties of colloïdes in relation to tissues structures (*Anat. Record.*, vol. X).

JOLLY, 1903. Sur la durée de la vie et de la multiplication des cellules animales en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1266).

JOLLY, 1910. Sur la survie des cellules en dehors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 86).

JOLLY, 1910. Sur la survie des leucocytes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 269).

JOLLY, 1910. A propos des communications de MM. Alexis CARREL et MONTROSE BURROWS sur la « culture des tissus » (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 470).

JOLLY, 1910. Sur la signification des figures de mitose que l'on observe dans les tissus séparés du corps (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 608).

JOLLY, 1911. Sur la survie des leucocytes, démonstration (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXI, p. 147).

JONES and ROUX, 1917. The phagocytic power of connective tissue cells (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXV, p. 189).

KROUTOVSKI and RADZIMOVSKA, 1922. On the influence of change of concentration of the H resp. OH ions of the life on the tissue cells of Vertebrates (*Journ. of Phys.*, vol. LVI, p. 275).

LACOSTE, 1913. *Recherches expérimentales sur la kératoplastie* (*Thèse* de Bordeaux).

LAUNOY, 1904. La cellule hépatique au cours de l'autolyse aseptique. Dégénérescence graisseuse expérimentale (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVII, p. 357).

LAUNOY, 1905. La cellule hépatique au cours de l'autolyse aseptique. Dégénérescence gaisseuse expérimentale (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVIII, p. 860).

LAUNOY, 1906. L'autolyse aseptique du foie dans le sérum sanguin (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, p. 496).

LAUNOY, 1907. Nouvelle contribution à l'étude histologique de l'autolyse aseptique du foie. Action favorisante des chlorures de quelques métaux bivalents (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, p. 487).

LAUNOY, 1907. A propos de l'étude histophysiologique de l'autolyse aseptique du foie. Action inhibitrice du citrate de sodium (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, p. 1175).

LAUNOY, 1907. Nouvelle contribution à l'étude histophysiologique de l'autolyse aseptique du foie. Sur la stabilité de la chromatine nucléaire dans la solution de chlorure de sodium isotonique (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIII, p. 476).

LAUNOY, 1908. Sur quelques caractères histophysiologiques de l'autolyse aseptique du foie. Période de latence. Formation brusque des corps myéliniques (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIV, p. 32).

LAUNOY, 1908. Premières conclusions relatives à l'étude histophysiologique de l'autolyse aseptique du foie (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXV, p. 352).

LAUNOY, 1908. L'autolyse des organes et les ferments endo-cellulaires (*Bull. Inst. Past.* 1re partie, p. 289, 297 ; 2e partie, p. 337, 350).

LAUNOY, 1909. Nouvelles recherches cytologiques sur l'autolyse aseptique du foie (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLIII, p. 306).

LAUNOY, 1909. Contribution à l'étude histophysiologique de l'autolyse aseptique du foie (1er mémoire, *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXIII, p. 1, 28 ; 2e mémoire, p. 979, 1008).

LAUNOY, 1909. A propos de l'existence de figures karyocinétiques multiples dans le foie en autolyse ou en cadavérisation de la Souris blanche adulte (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVI, p. 564).

Launoy, 1909. Figures karyocinétiques dans le foie d'un Lapin mort tardivement à la suite d'une anesthésie chloroformique (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVII, p. 807).

Launoy, 1911. De l'action des métaux alcalino-terreux et du citrate de sodium sur la survie cellulaire (à propos d'une note récente de E. Nageotte) (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 28, 1911).

Legendre et Minot, 1910. Essai de conservation hors de l'organisme des cellules nerveuses des ganglions spinaux. I. Plan de recherches et dispositif expérimental (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 795).

Legendre et Minot, 1910. II. Conservation dans le sang défibriné (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 839).

Legendre et Minot, 1910. III. L'influence de la dilution sur la conservation des cellules nerveuses des ganglions spinaux hors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 885).

Legendre et Minot, 1910. Influence de la température sur la conservation des cellules nerveuses des ganglions spinaux hors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 618).

Legendre et Minot, 1911. Essais de conservation hors de l'organisme des cellules nerveuses des ganglions spinaux (*Bull. Muséum Hist. Nat.*, n° 6).

Legendre et Minot, 1911. Influence du barbotage sur la conservation des cellules nerveuses des ganglions spinaux hors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 1034).

Legendre et Minot, 1911. Modifications qui se produisent quand on replace à 39° les cellules nerveuses des ganglions spinaux conservés à 15-20° hors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXI, p. 372).

Legendre et Minot, 1911. Formation de nouveaux prolongements par certaines cellules nerveuses des ganglions spinaux conservés à 39° hors de l'organisme (*C. R. Soc. Biol.*).

Letulle, 1918. Les séquelles de la pneumonie franche lobaire aiguë pneumococcique (*Journ. Phys. et Path.*, t. XVII, p. 856).

Levi (G.), 1916. La costituzione del protoplasma studiata su cellule viventi coltivate *in vitro* (*Arch. di Phisiol.*, vol. XIV).

Levi (G.), 1916. Differenziazione *in vitro* di cellule mesenchimali e loro accrescimento per movimento ameboide (*Monit. Zool.*, 1916, p. 27).

Levi (G.), 1916. Migrazione di elementi specifici differenziati in colture di miocardio e di muscoli scheletici (*Arch. per le Sc. Med.*, vol. XL).

Levi (G.), 1916. Dimostrazioni della natura condriosomica degli organuli cellulari colorabili col Bleu Pirrolo (*Rendic. C. R. Ac. dei Lincei.*, vol. XXV, Ser. 5).

Levi (G.), 1916. Il ritmo e la modalità delle mitosi nelle cellule viventi coltivate *in vitro* (*Arch. Ital. di Anat. e Embr.*, vol. XV).

Levi (G.), 1917. Connessioni e struttura degli elementi nervosi sviluppati fuori dell' organismo (*Mem. R. Ac. Lincei.*, Ser. 5., vol. XII, f. 4).

Levi (G.), 1918. L'individualità delle cellule (*Monit. Zool. Ital.*, vol. XXIV).

Levi (G.), 1919. Nuovi studi su cellule coltivate *in vitro* (*Ar ch. di Anat. e di Embr.*, vol. XVI, p. 423, 599).

Levi (G.), 1922. Vita autonoma di parti dell' organismo. La coltivazione dei tessuti (*Attualità scientifiche*, Serie medica, n° 8).

Levi (G.), 1923. Culture di tessuti. (*Monitore Zool. Italiano*, vol. XXXIV, p. 170).

Levi (G.), 1924. L'instabilita di forma del condrioma nelle cellule viventi (*Monitore Zool. Italiano*, vol. XXXV, p. 32).

Levi (G.), 1924. Caractères morphologiques spécifiques et propriétés biologiques de différents tissus dans les cultures « in vitro » (*C. R. Assoc. des Anat.*, 19e réunion, Strasbourg, p. 204).

Lewis (W. H.), 1919. Degeneration granules and vacuoles in the fibroblasts of Chick embryo cultivated *in vitro* (*Bull. Johns. Hopkins. Hosp.*, vol. XXX, p. 81).

Lewis (W. H.), 1919. The behavior of the centriole and the centrosphere in the degenerating fibroblasts of tissue cultures (*Amer. Journ. Phys.*, t. XLIX, p. 123).

Lewis (W. H.) ,1920. Giant centrosphère sin degenerating mesenchyme cells o tissue cultures (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXI, p. 275).

Lewis (W. H.), 1922. Endothelium in tissue cultures (*Amer. Journ. of Anat.*, vol. XXX).

Lewis (M. R.), 1920. The formation of vacuoles due to *Bacillus typhosus* in the cells of tissue cultures of the intestine of the Chick embryo (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXI, p. 293).

Lewis (M. R., 1921. Granules in the cells of Chick embryos produced by egg albumin in the medium of tissue cultures (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXIII, p. 485).

Lewis (M. R.) and Lewis (W. H.), 1911. The growth of embryonic chick tissue in artificial media, agar and bouillon (*John Hopkins. Hosp. Bull.*, vol. XXII).

Lewis (M. R.) and Lewis (W. H.), 1914. Mitochondria and other cytoplasmic structures in tissue culture (*Amer. Journ. Anat.*, vol. XVII, p. 15).

Lewis (M. R.) and Lewis (W. H.), 1914. Motochondria in tissue culture (*Science*, N. S., vol. XXXIX).

Lewis (M. R.) and Lewis (W. H.), 1915. Mitochondria and other cytoplasmic structures in tissue cultures (*Amer. Journ. of Anat.*, vol. XVII).

Lewis (M. R.) and Robertson (B.), 1916. The mitochondria and other structures observed by the tissue culture method in the male germ cells of *Chortippus curtipennis* (*Biol. Bull.*, vol. XXX).

Lewis (W. H.) and Webster Leslie, 1921. Wandering cells endothelial cells and fibroblasts in cultures form human lymph nodes (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXIV, p. 397).

Lewis (W. H.) and Webster Leslie, 1921. Giant cells in cultures from human lymph nodes (*Journ. Exp. Med.*, vol. XXXIII, p. 349).

Lewis (W. H.) and Webster Leslie, 1921. Migration of lymphocytes in plasma cultures in human lymph nodes (*Journ. Exp. Med.*, t. XXXIII, p. 261).

Loeb (L.), 1909. Some conditions in the growth of tumors (*New-York. Med. Journ. 24 July*).

Loeb (L.), 1912. Growth of tissues in culture media and its significance for the analysis of growth phenomena (*Anat. Record.*, vol. VI).

Loeb (L.), 1922. On stereopism as a cause of cell degeneration and death and on means to prolonge the life of cells (*Science*, janvier).

Lund, 1917. Reversibility of morphogenetic processes in *Bursaria* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXIV, p. 1).

Macklin, 1917. Binucleate cells in tissue cultures (*Contrib. to Embr.* nº 13. *Extr. from. Publ.* 224 *Carnegie Inst. of Washington*).

Marinesco, 1907. Recherches sur la transplantation des ganglions nerveux (*C. R. Ac. Sc.*, février).

Marinesco, 1907. Quelques recherches sur la transplantation des ganglions nerveux (*Rev. Neurol.*, mars).

Maximoff, 1916. The cultivation of connective tissue of adult Mammals *in vitro* (*Arch. russes d'Anat. et Embr.*, t. I).

Maximoff, 1917. De l'action stimulante de l'extrait de moelle osseuse sur la croissance et l'évolution des cellules dans les cultures de tissu lymphoïde (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXX, p. 225).

Maximoff, 1917. Sur les rapports entre les grands et les petits lymphocytes et les cellules réticulaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXX, p. 237).

Mayer et Morel, 1919. La lipase du tissu pulmonaire (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. I, nº 4, p. 189).

Mendeleeff, 1923. Les cultures de tissus embryonnaires de Cobaye dans les milieux de pH déterminés (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 291).

Mendeleeff, 1923. Les phénomènes physico-chimiques dans la genèse des tissus embryonnaires (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 293).

Mendeleeff, 1923. Les cultures de tissus vivants et le problème des tumeurs (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIX, p. 146).

Morel (J.), 1923. Les lamelles du tissu conjonctif dans l'œdème expérimental (*C. R. Ass. des Anatomistes*, 18e réunion, Lyon, p. 381).

Mouton, 1902. Recherches sur la digestion chez les Amibes et sur leur diastase intracellulaire (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, vol. XVI).

Muller, 1911. Versuche über die Regenerationsfähigkeit der Susswasser Schwämme (*Zool. Anz.*, Bd. XXXVII).

Nageotte, 1916. Les fibres synaptiques de Ranvier et les relations de l'hyaline avec les substances conjonctives dans les plaies cutanées expérimentales (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIX).

Nageotte, 1917. Sur la greffe des tissus morts et en particulier sur la réparation des pertes de substance des nerfs à l'aide de greffons nerveux conservés dans l'alcool (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXX).

Nageotte, 1917. Escarre par dessiccation du cartilage auriculaire vivant et des portions dénudées de greffes cartilagineuses mortes; mode d'élimination et phénomènes consécutifs (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXX, juillet).

Nageotte, 1917. Sur la possibilité d'utiliser dans la pratique chirurgicale les greffons de nerfs fixés par l'alcool ; technique à employer (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXX, décembre).

Nageotte, 1918. Utilisation de greffes mortes pour la réparation chirurgicale des tissus de nature conjonctive (avec L. Sencert) (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXVII, p. 610).

Nageotte, 1918. Greffes fonctionnelles d'artères mortes (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLVII, p. 793).

Nageotte, 1919. Considérations historiques au sujet des greffes mortes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, juillet).

Nageotte, 1919. Sur les phénomènes biologiques mis en évidence par les greffes fonctionnelles d'artères mortes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, janvier.) (En collab. avec L. Sensert).

Nageotte, 1920. Croissance, modelage et métamorphose de la trame fibrineuse dans les caillots cruoriques (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, mai).

Nageotte, 1922. *L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie.* (Félix Alcan, Paris).

Oppel, 1912. Kausal-morphologische Zellenstudien. 4 Mitth. die Explantation von Säugethiergeweben (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. XXXIV).

Oppel, 1912. Ueber aktive Epithelbewegung (*Anat. Anz.*, Bd. XLI).

Oppel, 1913. Explantation. Das Glaskultur, *in vitro* kultur. Sammelbericht (*Zentralbl. f. Zool. Allg. u. Exp. Biol.*, Bd. III, p. 209, 32).

Pearl, 1921. (*Scient. Monthly.*, t. XII, p. 332).

Policard, 1918. *L'évolution de la plaie de guerre* (Paris, Masson édit.).

Ranvier, 1871. Des lésions du tissu conjonctif lâche dans l'œdème (*C. R. Ac. Sc.*, p. 124).

Ranvier, 1897. Des premières modifications qui surviennent dans les cellules fixes de la cornée au voisinage des plaies de cette membrane (*C. R. Ac.. Sc.*, p. 910).

Ranvier, 1897. Sur le mécanisme histologique de la cicatrisation et sur des fibres nouvelles « fibres synaptiques » (*C. R . Ac. Sc.*, 1er mars, p. 444).

Ranvier, 1898. Recherches expérimentales sur le mécanisme de la cicatrisation des plaies de la cornée (*Arch. Anat. micr.*, vol. II, p. 45, 177).

Renaut et Dubreuil, 1909. Les premiers stades de la défense du tissu conjonctif contre sa tuberculisation expérimentale (*Bibl. Anat.*, t. XIX, p. 27, 45).

Romanese, 1921. Sulle modificazioni morphologische delle cellule coltivate *in vitro* al momento della morte (*Atti. d. R. Ac. dei Lincei.*, t. XXX, p. 337, 340).

Rubens Duval, 1908. *Cytologie des inflammations cutanées* (*Thèse*, Paris).

Shipley, 1916. The development of erythrocytes from hemoglobin free cells and the differenciation of heart muscle fibres in tissue cultivated in plasma (*Anat. Record.*, vol. X).

Sokoloff, 1922. Mitochondries de la cellule maligne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 1202).

Sokoloff, 1922. Relation entre le noyau et le cytoplasma dans la cellule maligne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 1200).

Strangeways, 1924. *Tissue Culture in Relation to growth and Differentiation.* Cambridge, Heffer et Sons.

Strangeways, 1924. *Technique of tissue culture in vitro.* Cambridge, Heffer et Sons.

Wilson, 1907. On some phenomena of coalescence and regeneration in Sponges (*Journ. Exp. Zool.*, vol. V).

Wilson, 1911. On the regenerative power of the dissociated cells in Hydroids (*Porc. Amer. Soc. Zoologist. Science*).

Wilson, 1911. Development of Sponges from dissociated tissue cells (*Bull. of Bureau Fisheries*, vol. XXX).

Wilson, 1911. On the behavior of the dissociated cells in Hydroids *Alcyonaria* and *Asterias* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. II, p. 281, 338).

Whorter Mc John and Whipple Allen, 1912. The development of the blastoderm of the Chick *in vitro* (*Anat. Record.*, vol. VI, p. 121, 140).

CONCLUSIONS

Au point de vue adopté dans cette revue d'ensemble, l'ontogenèse peut être définie par les variations, en fonction du temps, de deux caractéristiques qui sont : 1° la masse de substances constituant un système organisé ; 2° le degré d'hétérogénéité et la complexité physico-chimique de ce système.

Ces variations ont lieu le plus fréquemment dans le sens d'un accroissement, mais aussi, à certains stades et pendant un temps généralement court, dans le sens d'une diminution.

Le problème de l'accroissement de masse des substances organisées est un problème de métabolisme, et les mécanismes chimiques qui sont en jeu n'ont pas été envisagés dans cet ouvrage.

Le problème de l'accroissement du degré d'hétérogénéité et de la complexité physico-chimique du système est essentiellement le problème morphogénique ; il est en rapport immédiat avec celui de la réalisation progressive des structures qui conditionnent le mécanisme physiologique.

L'accroissement de la complexité du système se réalise progressivement soit par une augmentation de l'hétérogénéité intracellulaire par différenciation protoplasmique, soit, beaucoup plus généralement, par la multiplication des cellules, et cette multiplication pose de nombreux problèmes.

Les limites de la taille cellulaire, ainsi que les variations possibles de cette limite ont été étudiées dans les premiers chapitres ; la relation nucléoplasmique et les variations du rapport $\frac{N}{P}$, qui ne sont peut-être qu'une expression de modifications plus profondes du système cellulaire, ont été analysées à ce point de vue. D'autre part les phénomènes de la division entraînent des accroissements de surface et des mouvements internes qui, à l'égard de la tension superficielle, de la cohésion et de la viscosité du cytoplasma, représentent un travail mécanique ; l'énergétique de la division cellulaire n'a encore été abordée que très indirectement, mais le problème existe et doit être posé si l'on aborde l'énergétique du développement. On peut admettre que les transformations d'énergie au cours de l'ontogenèse aboutissent à deux sortes de résultats essentiels, suivant qu'elles

fournissent un travail chimique en rapport avec le métabolisme et les synthèses qui assurent l'accroissement de masse, ou bien un travail morphogénique qui réalise l'accroissement progressif de l'hétérogénéité et de la complexité du système. Bien que les méthodes employées ne permettent pas la mesure directe du travail morphogénique, il est possible de donner un schéma thermodynamique de l'ontogenèse. Mais ce schéma n'éclaire pas un point fondamental : les processus du développement sont limités et irréversibles, ce qui représente, pour le biologiste, les problèmes de la vieillesse et de la mort, de l'immortalité du plasma germinatif à travers les générations successives, du cancer enfin dont les néoformations tissulaires semblent violer les lois du développement individuel. Ces questions n'ont pas été traitées ici, car en abordant l'étude directe du vieillissement d'un individu ou de la multiplication illimitée d'éléments cancéreux, on risque de situer au premier plan des facteurs qui ne sont peut-être que d'importance secondaire ; aussi bien la limite comme l'irréversibilité des processus ontogénétiques se manifestent-ils dès les premiers stades du développement, puisque l'accroissement de masse s'effectue suivant les courbes cycliques définies par Robertson et satisfait, si l'on considère dans cet accroissement l'élément vitesse, à l'équation

$$\frac{dx}{dt} = \mathrm{K}x\,(\mathrm{A} - x) \quad \text{(page 232)}$$

On a vu que cette équation étant applicable d'autre part à certaines réactions chimiques, quelques auteurs ont comparé l'accroissement d'une masse protoplasmique et l'accroissement de la masse d'un corps A formé au cours de la transformation autocatalytique d'une substance x. Une telle comparaison n'a de valeur que par analogie, parce qu'il existe, suivant l'heureuse expression de Petrovitch, « des mécanismes communs aux phénomènes disparates » ; Vlès (1919) écrit à propos des lois mathématiques de la cicatrisation : « Nous concevons depuis les travaux de Curie, Voit, Petrovitch, etc., qu'il existe une mécanique générale des phénomènes indépendante des qualités spécifiques de ceux-ci, et régie simplement par les caractéristiques de symétrie de leurs champs directeurs ; de ce que deux phénomènes, l'un d'hydrodynamique par exemple, et l'autre d'électricité répondent aux mêmes schémas analytiques, il ne s'ensuit pas nécessairement que l'on soit *a priori* en droit de pousser l'interprétation au delà de celle de la structure de leurs champs ».

On ne doit donc pas demander aux équations exprimant la croissance d'un corps organisé l'explication des problèmes de l'ontogenèse ; mais cette réserve faite, il devient évident que les courbes de croissance représentent un précieux objet d'étude, parce que leur analyse,

et la recherche de leurs équations caractéristiques, permettent la comparaison des représentations simplifiées de phénomènes complexes. L'étude des « cycles » de croissance totale embryonnaire ou post-embryonnaire, des cycles de croissance des organes et des tissus et des équations empiriques ou théoriques qui définissent la liaison des variations de masse des constituants d'un même individu étudié en fonction du temps, tient pour cette raison une place importante dans ce travail. Cette étude précise un fait remarquable : non seulement le développement d'un organisme est limité, mais encore il est discontinu, et cette loi, qui s'applique aux organismes complexes, multicellulaires, s'applique encore à des lignées de cellules isolées, à des Protozoaires ; cette loi cyclique de la croissance exprime-t-elle une propriété fondamentale, obligatoire, propre à tout système organisé ? On a vu qu'il n'en est rien ; les recherches faites sur des Infusoires de taille petite et de structure simple, ayant un taux de croissance élevé, montrent qu'une lignée cellulaire peut se multiplier indéfiniment avec un taux de croissance constant. Le même résultat est apporté par les expériences de culture cellulaire *in vitro*, puisque la multiplication comme la croissance de la cellule conjonctive se poursuivent indéfiniment, elles aussi, à un taux constant. Dans ce dernier cas cependant, on doit faire une réserve à cause de la présence nécessaire d'un aliment de nature inconnue apporté par le « jus d'embryon».

On peut donc conclure que pour une lignée de cellules libres, ou isolées de leur milieu d'origine, la loi d'accroissement continu de Slator ou la loi d'accroissement discontinu, cyclique, de Robertson s'appliquent l'une ou l'autre suivant des cas d'espèces, tandis que chez les organismes complexes, la loi de croissance cyclique est la règle.

Dans quelle direction pouvons-nous dès lors chercher la cause du développement cyclique, discontinu et limité, puisque ces conditions ne sont pas obligatoirement imposées par l'organisation cellulaire ?

Si nous comparons la croissance du fibroblaste des Vertébrés supérieurs dans trois cas différents, nous constatons que *in vitro* la cellule ne produit pas de substance collagène et se multiplie indéfiniment ; que *in vivo* elle produit de la substance collagène et présente une multiplication limitée ; que sous l'influence d'une inflammation enfin, la trame collagène dilacérée par l'œdème interstitiel s'altère ou se détruit, tandis que la cellule se multiplie plus activement.

En première approximation, on pourrait supposer que la substance collagène, produit de l'activité cellulaire, isole peu à peu le fibroblaste, ralentit ses échanges, et que, par là même, l'accroissement de la masse formée s'oppose à l'accroissement de la masse cellulaire ou formatrice. Le cas serait comparable *par analogie* au cas de la réaction autocalytique supposée par J. Loeb et par Robertson dans le-

quel l'accroissement de la masse du produit formé ralentit la vitesse de la réaction.

La même remarque peut être faite à l'égard de la cellule cartilagineuse étudiée *in vivo* et *in vitro*, et cette interprétation du ralentissement des processus de croissance est bien proche de la théorie de Minot, de la « cytomorphose » qui explique les phénomènes de sénescence par l'accroissement progressif des produits inertes de différenciation, par rapport à la substance protoplasmique active.

Les recherches de Brody traduisent une préoccupation analogue; à propos de la croissance de la Vache laitière, Brody, Ragsdale et Turner (1923) arrivent à la conception suivante : la croissance et la sénescence sont deux processus qui se déroulent parallèlement au cours de l'ontogenèse tout entière avec des vitesses constantes, mais différentes, de sorte qu'au début du cycle d'un individu, le rapport de la croissance à la sénescence est infiniment grand, tandis que, à l'extrême vieillesse naturelle, le rapport inverse se trouve réalisé. Admettant l'hypothèse que chacun de ces processus est de nature physico-chimique, que la loi d'action de masse leur est applicable, que l'équation d'une réaction chimique simple peut leur être appliquée (J. Loeb, Robertson, etc.) ; considérant d'autre part que dans un système de réactions chimiques interdépendantes la réaction la plus lente conditionne le taux du processus résultant, ces auteurs supposent théoriquement que le cours du développement tout entier pourra s'exprimer par une équation applicable à une réaction chimique complexe.

La vie, disent-ils, peut être représentée par l'expression symbolique X→Y→Z, X→Y étant le processus de croissance qui suit une courbe de réaction simple, et Y→Z étant le processus de sénescence qui suit une courbe analogue. Le développement total X→Z, exprimé par un indice quelconque de l'activité physiologique M_t (sécrétion lactée par exemple dans le cas étudié) peut se représenter par l'équation :

$$M_t = A\,(ae^{-K_1 t} - be^{-K_2 t})$$

valable pour quelques réactions consécutives, et dans laquelle K_1 et K_2 sont les vitesses constantes de sénescence et de croissance, t, l'âge et e la base des logarithmes naturels.

Le problème de la croissance cyclique se présente cependant sous un autre aspect, si l'on reprend l'exemple des cultures *in vitro*, dont on sait qu'elles ne peuvent se multiplier qu'en présence d'un aliment X contenu *seulement dans les tissus* embryonnaires, et dont on sait aussi qu'elles sont ralenties par le sérum d'un animal âgé. Des substances nécessaires seraient-elles accumulées par l'œuf ou les tissus

embryonnaires en quantité limitée, et dans des conditions telles que les tissus de l'organisme plus développé seraient incapables de pourvoir à leur épuisement ? On retrouverait dans ce cas un problème de métabolisme probablement identique à celui des vitamines de croissance. Les résultats très remarquables obtenus au cours de multiples recherches effectuées sur la multiplication cellulaire n'ont pas été analysés dans cet ouvrage, parce qu'ils apparaissent comme des aspects divers, et mal coordonnés jusqu'ici, de ce problème de métabolisme. Il faudrait citer cependant quelques travaux sur les substances dites « auxétiques » qui accroissent *in vivo* le taux de la multiplication cellulaire ; les recherches de Unna, de Jadassohn et de leurs élèves, et celles très nombreuses effectuées pendant la guerre sur les substances dites « cicatrisantes » (1) ; les curieuses expériences de Robertson (1921 et 1922) sur la substance X sécrétée par les Infusoires et agissant sur leur taux de multiplication ; celles de Dustin (1921 et 1922) relatives à l'onde cinétique qui suit les injections de peptones ; enfin les expériences montrant l'action sur la division cellulaire des extraits d'organes. P. Carnot (1907) utilise des poudres d'embryons ou d'organe qui, administrées par ingestion, augmentent beaucoup le nombre des divisions cellulaires surtout au cours des phénomènes de régénération ; Gudernatsch (1912, 1914) constate l'influence de l'ingestion de corps thyroïde sur la métamorphose des Têtards de Batraciens, et cette influence est vérifiée par nombre d'expérimentateurs ; les observations cytologiques de Champy (1922) montrent que l'ingestion de corps thyroïde par le Têtard augmente le nombre des mitoses dans tous les tissus qui doivent jouer un rôle actif au cours de la métamorphose, et celles de Dragoiu (1921) décèlent, dans le foie et le rein des Têtards soumis à ce régime, les signes d'un accroissement de l'activité métabolique. Les mêmes expérimentateurs constatent, d'autre part, que l'ingestion de tissus thymiques ou d'aliments riches en nucléoprotéides favorise la croissance du Têtard, mais retarde la métamorphose et Nowikoff (1908), Schumway (1914), Buddington et Harwey (1915), Chambers (1919), Cory (1923) montrent sur des

Fig. 63. — Prolifération cellulaire obtenue dans le rein sous l'influence de poudre d'embryon, d'après Paul Carnot.

(1) Voir en particulier Rost et Werner (1915), etc. et dans un ordre de faits voisins, Haberland (1921).

Infusoires ciliés (*Paramæcium*) que les extraits de ces mêmes organes, ainsi que divers aliments azotés, peuvent activer séparément soit la division cellulaire, soit la croissance cellulaire, de sorte que l'on obtient, suivant le régime, des individus de taille très différente. Il serait intéressant d'étudier dans ce cas les variations de la relation nucléoplasmique.

On peut retenir, de cet ensemble de faits assez disparates, l'idée que des substances plus ou moins spécifiques règlent le métabolisme et le pouvoir de multiplication cellulaire ; Brachet (1923), Fauré-Fremiet (1923), Brody et Ragsdale (1924) ont émis l'hypothèse

Fig. 64. — Prolifération de cellules hépatiques sous l'influence de poudre d'embryon, d'après P. Carnot.

citée plus haut que l'épuisement de semblables substances pourrait rendre compte du caractère limité d'un cycle de développement, et l'idée d'un épuisement progressif de substances indispensables à la croissance comme à la vie, et constituant une sorte de dotation initiale et limitée de l'embryon, semble avoir trouvé un point d'appui nouveau dans les recherches de Carrel et Ebeling démontrant la disparition progressive en fonction de l'âge d'un facteur activant la multiplication cellulaire et contenu dans le sérum sanguin.

Mais cette hypothèse peut s'exprimer autrement, car admettre la disparition progressive d'un constituant quelconque revient à dire que la composition d'un système organique varie en fonction du temps entre certaines limites.

L'étude chimique d'un organe en voie de croissance a montré précisément (chapitre v) que des variations de composition pouvaient

être suivies non seulement dans la masse totale de l'organe, mais encore pendant l'évolution des lignées cellulaires constituant ses tissus. Et, si l'on considère isolément un élément cellulaire en voie de croissance, les variations de la relation nucléoplasmique constatées entre deux bipartitions consécutives apparaissent comme le résultat d'un phénomène semblable.

A première vue, cette conception semble contradictoire avec l'existence des constantes cellulaires ; c'est qu'il existe une apparente opposition entre deux points de vue biologiques fondamentaux, entre deux aspects différents de l'organisme.

L'étude analytique ou expérimentale des mécanismes suppose que l'organisme normal fonctionne en régime constant dans des conditions exactement déterminées ; ceci est vrai chez l'animal adulte étudié pendant un temps court. De même que chez cet organisme adulte il existe un équilibre entre les différents organes, de même les variations de composition propres à chaque cellule au cours de sa croissance ralentie, ou de ses cycles fonctionnels, se compensent et donnent pour leur ensemble une valeur moyenne constante et caractéristique. Cette valeur constante, qui peut se modifier avec certains états fonctionnels ou pathologiques, correspond à un régime normal défini par un système d'équilibres de régime qui se règlent les uns les autres.

L'étude analytique ou expérimentale du développement porte tout au contraire sur les variations du système organisé entre l'état initial représenté par l'œuf et l'état final défini par la mort, c'est-à-dire pendant un temps beaucoup plus long que celui qui peut correspondre à l'état de quasi-équilibre chez l'organisme adulte. L'être en cours de développement représente une suite ininterrompue d'états physico-chimiques, dont les conditions d'équilibre se modifient sans cesse mais d'une manière plus ou moins accentuée.

La variation continuelle, sinon continue, de la composition d'un organisme est inséparable de l'idée de développement. On peut donner un schéma général de son mécanisme en introduisant la notion de vitesse de formation ou de destruction des constituants de cet organisme, et en supposant (ce qui est vraisemblable) que cette vitesse doit être différente pour chacun d'entre eux, de telle sorte que les rapports de leurs masses varient en fonction du temps, ou, ce qui revient au même, que le taux de chacun de ces constituants varie par rapport à la masse totale. Chodat a développé une idée analogue au sujet de la croissance des Végétaux, et cette notion se retrouve dans les travaux de Brody déjà cités. Enfin la théorie des *vitesses de réaction discordantes* (abgestimmten Reaktionsgeschwindigkeiten) développée par R. Goldsmidt (1923) pour rendre compte de certains phénomènes morphogénétiques, tels que la détermination expéri-

mentale de caractères spécifiques ou sexuels, correspond encore à un même point de vue.

On peut dès lors substituer à l'idée d'une substance X qui s'épuise peu à peu au cours du développement, l'idée d'états successifs dont les modifications ne peuvent demeurer compatibles avec un même régime fonctionnel.

Si l'on poursuit l'analyse des processus de l'ontogenèse, on constate encore que les variations du taux d'un constituant de l'organisme (que ce constituant soit lui-même un organe complexe, ou un tissu, ou l'un des composants chimiques d'un tissu ou d'une cellule), sont certainement liées à celles des autres constituants. C'est ainsi que, d'après Aron, les modifications progressives du pancréas fœtal déclanchent, lorsque les îlots de Langerhans atteignent un état déterminé, la glycogenèse hépatique. Les courbes de croissance d'organes ou de tissus et les équations qui les définissent expriment précisément ces liaisons, mais sans prétendre à les expliquer.

Dans une représentation générale des phénomènes de l'ontogenèse, le cycle de croissance d'un individu, c'est-à-dire la variation de sa vitesse d'accroissement, pourrait être considérée comme un effet de sa variation de composition ; celle-ci en effet ne saurait être indéfinie, et l'on conçoit que pour certaines valeurs limites, il n'y ait plus que deux possibilités : soit que le régime fonctionnel devienne incompatible avec le maintien de l'intégrité organique et que la mort s'ensuive, soit qu'un régime nouveau soit réalisé comportant un mécanisme régulateur (« croissance nucléaire de division », endomixie, etc.). C'est ici que devrait logiquement prendre place l'étude de la formation des produits sexuels et de leur maturation, celle de la fécondation de l'œuf et du mécanisme chimique et énergétique qui assure le début d'un cycle nouveau.

L'ontogenèse comprise dans ce sens donnerait une représentation cinétique et dynamique de l'individu ; mais pour que celle-ci soit complète, on ne saurait se contenter de l'équation d'une courbe à deux dimensions exprimant, par une variation de masse en fonction du temps, un cycle de croissance totale.

En effet, si le développement pondéral d'un constituant du système organisé, ou de ce système organisé lui-même peut être déterminé en fonction du temps et de la température par exemple, les caractères spécifiques de ce système, lesquels expriment son unité physiologique et morphologique au cours du développement, ne sont plus liés à une mesure de temps. Ce qui importe pour exprimer l'unité ontogénétique d'un individu, ce sont les variations de ses constituants *considérés en fonction les unes des autres* ; et c'est dans ce sens que l'on peut comprendre la pittoresque formule de Jackson : « La taille d'un

organe, sa forme, sa structure, sont liées au passé, au présent et au futur ».

A ce point de vue, l'individu apparaît comme une multiplicité dont il conviendrait de pouvoir définir les grandeurs caractéristiques, les paramètres qui permettraient d'en donner une représentation totale et non plus une représentation artificielle exprimant seulement une succession d'états. Il est possible que l'évolution des sciences du développement nous place un jour devant l'obligation de définir ces « dimensions », probablement nombreuses, et leurs modes de variations réciproques afin d'aborder d'une manière plus directe, grâce à ce nouveau point de vue, les problèmes de la forme spécifique et de l'hérédité.

BIBLIOGRAPHIE

Bennet, 1918. The result of thyroid removal in the larvae of *Rana pipiens* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XXIV, p. 499).

Brody (S.), 1924. The Kinetics of senescence (*Journ. of gen. Physiol.*, vol. VI, p. 245.)

Buddington and Harvey, 1915. Division rate on ciliate Protozoa as influenced by thyroid constituents (*Biol. Bull.*, vol. XXVIII).

Carnot (P.), 1899. *Les régénérations d'organes* (*Actualités méd.* J. B. Baillère et fils).

Carnot (P.), 1900. Le problème thérapeutique des régénérations d'organes (*Presse Med.*, 6 janvier).

Carnot (P.), 1900. Les réparations expérimentales de tissus (*Rapport à la sect. d'Anat. Path.*, 13e Congrès Intern. de Méd. Paris).

Carnot (P)., et Lelièvre, 1907. Activité néphropoiétique du rein fœtal (*C. R. Ac. Sc.*, 2 avril).

Carnot (P.), 1907. Hyperplasie hépatique provoquée par l'ingestion de foie régénéré ou fœtal (*C. R. Soc. Biol.*, 26 juin).

Cazzaniga, 1922. Sulle moderne direttive di accertamento integrale dei valori di vitalità (*Lo Sperimentale. Archivio di Biologia normale e patologica*, t. LXXXVI, p. 35).

Chambers, 1919. The effect of some food hormone and glandular products on the rate of growth of *Paramæcium* (*Biol. Bull.*, vol. XXXVI).

Champy, 1922. L'action de l'extrait thyroïdien sur la multiplication cellulaire. Caractère électif de cette action (*Arch. de Morph.*, facc. IV).

Cory (G. T.), 1923. The influence of thyroid extracts and thyroxin on the rate of multiplication of Paramæcia (*Amer. Journ. of Physiol.*, vol. LXV, p. 293).

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1921. Divers aspects de la cellule hépatique chez les têtards de *Rana temporaria* nourris avec de la thyroïde (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 434).

Dragoiu et Fauré-Fremiet, 1921. Etude histologique des phénomènes provoqués chez le têtard de *Rana temporaria* par l'alimentation thyroïdienne (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 437).

Dustin, 1921. L'onde de cinèse et l'onde de pycnoses dans le thymus de la Souris, après injection intrapéritonéale de sérum étranger (*C. R. Soc. Biol.*, 25 juin, t. LXXXV, p. 260).

Dustin, 1921. Déclenchement expérimental d'une onde cinétique par injection intrapéritonéale de sérum (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 23).

Dustin et J. Chapeauville, 1922. Les caractères de l'onde cinétique déclenchée par une injection intrapéritonéale de peptone (*C. R. Soc. Biol.*, 25 février, t. LXXXVI, p. 509).

Dustin et J. Chapeauville, 1922. Etude de l'onde cinétique déclenchée chez la Souris par l'injection intrapéritonéale de sérine, de CO^2-glucoline et de sérine + globuline (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 953).

Dustin, 1922. Influence d'injections intrapéritonéales répétées de peptone sur l'allure de la courbe des cinèses (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 371).

Dustin, 1922. Les phénomènes d'accoutumance, de cinéphylaxie et d'épuisement dans l'allure des ondes de cinèses obtenues par injections répétées de protéines étrangères (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, p. 1235).

Fauré-Fremiet et Dragoiu, 1923. Le premier cycle de croissance du têtard de *Rana temporaria* (*Arch. Int. de Phys.*, vol. XXI, fasc. 4, p. 403).

Goldschmidt, 1923. Einige Materialen zur Theorie der abgestimmten Reaktionsgechwindigkeiten (*Arch. mikr. Anat. u. Ent.*, Bd. XCVIII, p. 292, 313).

Gudernacht, 1912. Feeding experiments on Tadpoles, I. (*Arch. f. Ent. Mech.*, t. XXXV).

Gudernatch, 1914. Feeding experiments of Tadpoles, II. (*Amer. Journ. of Anat.*, t. XV).

Haberlandt, 1921. Wundhormone als Erreger von Zellteilungen (*Beitr. zur Allg. Botanik.* II, Bd. 1 Heft).

Lillie, 1909. The theory of individual development (*Popular Science Monthly*, septembre 1909).

Minot, 1908. *The problem of Age Growth and death* (London).

Novikoff, 1908. Die Wirkung des Schilddrüsenextracts auf Ciliaten (*Arch. f. Protistenkunde.*, Bd. XI, p. 309).

Petrovitch, 1921. *Mécanismes communs aux phénomènes disparates* (Paris, Alcan éditeur).

Pirquet (von), 1908. Allergie (*Erg. der inner. Med. und Kinderheilkunde, Berlin*, Bd. I).

Robertson (Br.), 1921. Experimental studies on cellular multiplication. I. The multiplication of isolated *Infusoria* (*Biochem. Journ.*, t. XV, p. 595, 711).

Robertson (Br.), 1921. Et. exp. sur mult. cell. Sur l'influence de la contiguité mutuelle sur la vitesse de reproduction et le rôle joué dans ce phénomène par la substance X qui stimule la multiplication des Infusoires dans les infusions envahies par les bactéries (*Bioch. Journ.*, t. XV, p. 612, 619).

Robertson, 1922. Reproduction in cell-communition (*Journ. of Physiol.*, vol. LVI, p. 404, 413).

Rost und Werner, 1915. Ueber Stoffe wie das Wachstum des Bindegewebes anregen (*Deutsch. Zeitschr. für Chirurgie*, Bd. CXXXIII, p. 344, 354).

Schumway, 1914. Effect of thyroid on division rate of *Paramæcium* (*Journ. Exp. Zool.*, vol. XVII, p. 297).

Stein, 1909. Experimentelle und histologische Untersuchungen über Hautgewohnung (*Arch. f. Dermat. und Syph.*, Bd. XCVII).

Werner, 1902. Experimentelle Epithelstudien über Wachstum, Regeneration Amitosen und Riesenzellenbildung des Epithels (*Bruns Beitr. zur klin. Chirurgie*, Bd. XXXIV).

Werner, 1904. Zur localen Sensibilisierung und Immunisierung der Gewebe gegen die Wirkung der Radiumstrahlen (*Deutsch. Mediz. Wochenschrift*, nos 27, 28).

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 1
Bibliographie 24

CHAPITRE PREMIER

Le système cellulaire au point de vue statique

1. Introduction 26
2. Le cytoplasma et l'état colloïdal 28
3. Le cytoplasma système hétérogène 31
4. Les différents types de structures cytoplasmiques hétérogènes 38
5. Importance de l'hétérogénéité cytoplasmique 41
6. Action de différents facteurs sur l'équilibre du cytoplasma 43
   a) Température 43
   b) Variation de la quantité d'eau 45
   c) Action des ions H et OH 46
   d) Action des cathions polyvalents 46
   e) Action des substances solubles dans une ou plusieurs phases cytoplasmiques 46
7. Le noyau et l'état colloïdal 49
8. Structures nucléaires hétérogènes ; action de divers facteurs 51
9. Rapports du cytoplasma et du noyau 52
10. Réaction du protoplasma cellulaire 53
11. Conclusions 54
Bibliographie du chapitre premier 55

CHAPITRE II

L'accroissement cellulaire

1. Grandeur cellulaire 62
2. La loi de Driesch. Discussion 64
3. La relation nucléoplasmique 72

4. La relation nucléoplasmique pendant la segmentation de l'œuf..... 80
5. La variation expérimentale du rapport $\frac{N}{P}$ et de la grandeur cellulaire... 88
6. Action de la température. Analyse des résultats..... 95
Bibliographie du chapitre II 103

CHAPITRE III

Les changements d'état du système cellulaire au cours de la division

1. Phénomènes nucléaires de la division..... 109
2. Phénomènes cytoplasmiques de la division..... 115
3. Relations entre la figure achromatique et le noyau..... 123
4. Energétique de la division cellulaire 126
5. Variations physico-chimiques du système cellulaire au cours de la division 139
a) Perméabilité 139
b) Sensibilité aux solvants des graisses..... 150
c) Sensibilité aux bases..... 152
d) Variation de la pression osmotique..... 153
f) Variation de la viscosité..... 154
g) Variation du pH intérieur..... 155
h) Variation de la charge électrique..... 156
i) Variation de la tension superficielle..... 158
Bibliographie du chapitre III..... 161

CHAPITRE IV

Les transformations d'énergie au cours du développement embryonnaire

1. Introduction..... 172
2. Le développement embryonnaire dans l'intérieur de l'œuf..... 178
3. Œuf d'*Ascaris* 179
4. Œuf de Grenouille..... 181
5. Œuf de *Sabellaria*..... 193
6. Œuf d'Oursin 194
7. Œuf de Poule..... 198
8. Œuf de Truite 205
9. Œuf de Ver à soie..... 209
Bibliographie du chapitre IV..... 213

CHAPITRE V

Les lois de la croissance du corps et des organes

1. Introduction 220
2. Forme de la croissance :..... 223
a) Homme 223
b) Cobaye..... 225
c) Rat..... 226
d) Poulet 227
e) Mouton 228
f) Souris..... 229

g) Vache 230
h) Animaux à métamorphoses 230
3. Etude analytique de la croissance 230
a) Formules empiriques ou approchées 231
b) Équations donnant une représentation générale des phénomènes 232
c) Accroissement pondéral des produits formés par l'organisme 236
4. Cas particuliers de croissance cyclique 238
5. Les variations de composition chimique au cours de la croissance 242
6. Lois de croissance des colonies d'Infusoires 254
Bibliographie du chapitre v 261

CHAPITRE VI

La multiplication des cellules libres. — Protozoaires

1. Introduction 268
2. Les cultures d'Infusoires 270
3. Rythmes et cycles 274
4. L'endomixie 277
5. La cause interne de l'endomixie 281
6. Lignées cycliques et lignées continues 283
Bibliographie du chapitre vi 285

CHAPITRE VII

La multiplication cellulaire in vitro. — *Cultures de tissus*

1. Introduction 290
2. Résultats obtenus 291
3. Conditions nécessaires pour la culture des cellules *in vitro* 294
a) Support 295
b) Milieux de culture 295
c) Aliments 296
d) Présence d'oxygène 300
e) Renouvellement du milieu 300
4. Modifications cellulaires caractéristiques de la culture *in vitro* 301
a) Modifications immédiates observées dans le « transplant » 301
b) Modifications immédiates subies par les cellules dans la zone d'invasion 302
c) Résultats du gonflement de la cellule *in vitro* 303
d) Conditions déterminant l'augmentation de l'imbibition cellulaire 304
Hémorragies 304
Greffes mortes 305
Inflammations 306
Tissu de bourgeonnement 308
Conditions communes aux différents cas examinés 308
5. Conclusions 310
Bibliographie du chapitre vii 314

CONCLUSIONS

Bibliographie des conclusions 331

Imp. des *Presses Universitaires de France*, Paris. — 0.039

INSTRUMENTATION SCIENTIFIQUE ET MATÉRIEL DE LABORATOIRE

se rapportant aux études et recherches expérimentales

SUR LE DÉVELOPPEMENT, L'HISTOGÉNIE ET LA CROISSANCE

Microscopes et appareils d'éclairage sur fond noir (ultra-microscope) et accessoires pour la technique histologique (microphotographie, etc.)

Cogit (Microscopes Leitz et Koritzka), 36, boulevard Saint-Michel, Paris.

Adnet (Microscopes Zeiss), 26, rue Vauquelin, Paris.

Krauss (Microscopes Reichert), 18-20, rue de Naples, Paris.

Stiasnie, 204, boulevard Raspail, Paris.

Nachet, 17, rue Saint-Séverin, Paris.

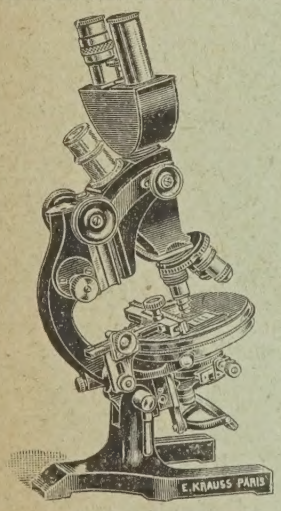
Micromanipulateurs :

Adnet (appareil Zeiss-Peterfi).

Watson, 313, High Holborn, London W. C. I. (appareil Chambers).

Colorants pour Histologie :

Établissements Kuhlmann (marque R. A. L.), 134, boulevard Haussmann.



MICROSCOPES

CONDENSATEURS pour ultra-microscopie.

DISPOSITIF STÉRÉOSCOPIQUE transformant tout microscope monoculaire en binoculaire.

OCULAIRE SPECTROSCOPIQUE

E. KRAUSS, 18, rue de Naples. — PARIS

MICROMANIPULATORS W. WATSON & Sons

These instruments are being made to the design of Professor Chambers, of Cornell University. Apparatus and accessories are now ready for biological, botanical, pathological, microdissection.

Owing to the necessity of using the Microscope in a vertical position for Microscope dissecting, a special Microscope has been designed, with universal movements so that observation can be made by the worker from whichever angle may be most convenient to him.

This is effected by an ingenious prism system.

Moist Chambers, needles, syringes, etc., for micromanipulators always in stock.

Colorants pour Histologie *(suite)* **:**

KRALL, à Montry (Seine-et-Marne), marque Microlor.

SOCIÉTÉ ANONYME DES MATIÈRES COLORANTES ET PRODUITS CHIMIQUES, 105, rue Lafayette, Paris.

Instruments de dissection :

COLLIN, 6, rue de l'École-de-Médecine, Paris.

Centrifugeurs :

JOUAN, 45, rue de la Quintinie, Paris.

LEUNE, 28 *bis*, rue du Cardinal-Lemoine, Paris.

COUPRIE, 14, rue Montesquieu, Lyon.

BOULITTE, 15 à 21, rue Bobillot, Paris.

Balances :

GARDELLE, 11, rue Thouin, Paris.

LONGUE, 8, boulevard Edgar-Quinet et 226, boulevard Raspail, Paris.

BREWER, 76, boulevard Saint-Germain, Paris.

Bombes calorimétriques :

Bombe Mahler, POULENC, 86, rue Vieille-du-Temple, Paris.

Bombe Féry, BAUDOUIN, 31, rue Lhomond.

CENTRIFUGEURS JOUAN

Ces appareils sont tous à moteur séparé.

Existent en capacités allant de 90 cc. à 4 litres, et tournent à des vitesses variant de 3.500 à 9.000 tours.

Dans les modèles à grande vitesse la valeur de la force centrifuge atteint 7.200 fois celle de la pesanteur.

ÉTUVEURS JOUAN

Sont avec ou sans enveloppe d'eau, l'homogénéisation de la température est obtenue, dans celles à air, par une circulation intérieure de l'air chaud en thermo-siphon.

Elles sont chauffées au gaz, au pétrole ou à l'électricité. Le réglage est obtenu, dans tous les cas, par un régulateur bimétallique d'une forme spéciale (modèle déposé).

MICROBALANCE APÉRIODIQUE DE C. LONGUE

Cette balance de haute précision, avec amortisseur à air, microscope, micromètre, miroir, est actuellement prévue pour peser 20 gr. dans chaque plateau à 1/1000 mg. près, c'est-à-dire à un vingt millionième près.

Le micromètre, divisé de 0 à 1000 et chiffré par dizaines, permet de lire d'un seul coup un nombre de quatre chiffres, lesquels représentent respectivement les milligrammes, dixièmes, centièmes et millièmes. On emploie les masses étalonnées jusqu'au dernier centigramme.

Cette balance, destinée aux pesées d'extrême précision sur lesquelles sont basées les méthodes de la microanalyse, réalise donc **le maximum de précision dans le minimum de temps.**

BALANCES et POIDS pour les Sciences, BALANCES APÉRIODIQUES, Appareils et étalons pour la métrologie, VERRERIE divisée et jaugée de précision. (Trente grands prix.)

Étuves :

Adnet, 26, rue Vauquelin, Paris.
Jouan, 45, rue de la Quintinie, Paris.
Cogit, 36, boulevard Saint-Michel, Paris.
Établissements Fontaine, M. Neveu, 16, rue Monsieur-le-Prince, Paris.
Poulenc, 86, rue Vieille-du-Temple, Paris,
Stiasne, 204, boulevard Raspail, Paris.
Spratt's, 38, rue Caumartin, Paris (système Hearson).

Glacières :

Jouan, 45, rue de la Quintinie, Paris.
Omnium frigorifique, 35, boulevard de Strasbourg, Paris.

Verrerie graduée :

Leune, 28 *bis*, rue du Cardinal-Lemoine, Paris.
Poulenc, 86, rue Vieille-du-Temple, Paris.
Établissements Fontaine, M. Neveu, 16, rue Monsieur-le-Prince, Paris.

Burette de Lévi et Marboutin :

Établissements Fontaine, M. Neveu, 16, rue Monsieur-le-Prince, Paris.

BALANCE CURIE apériodique (Louis Gardelle)

La balance *Curie*, apériodique, c'est-à-dire à amortissement immédiat, permet la détermination d'un poids en quelques secondes et de la façon la plus précise (au 1/10 de mgr.).

Modèle à une colonne, cage acajou massif, trois portes à charnières, dont une latérale, socle glace noire, couteaux et pans agate, étriers nickel massif, *micromètre sur aiguille*, ce qui rend toutes les parties de l'instrument symétriques par rapport à l'axe et diminue l'influence des variations atmosphériques, miroir mobile.

Force 200 grammes dans chaque plateau.

Force 500 grammes dans chaque plateau avec boîte de poids laiton verni, division aluminium.

Société Anonyme

DES MATIÈRES COLORANTES ET PRODUITS CHIMIQUES DE SANT-DENIS

Auramine.
Brun de phénylène S.
Fuchsine A.
Safranine AB.
Violet de méthyle 300 X. E.
Violet cristallisé.
Bleu de méthylène.
Bleu de thionine.
Bleu Victoria B.
Vert brillant.
Eosine.
Fluorescéine.
Bleu soluble pour coton 4 B (Bleu C 4 B).

Manomètre de Barcroft :

BAIRD et TADTLOCK, 14 and 15, Cross St-Hatton Garden, Londres E. C.

Planimètre Amsler :

BARBOTHEU, 17, rue Béranger, Paris.
MORIN, 11, rue Dulong, Paris.

Papier quadrillé logarithmique :

Presses Universitaires de France, 49, boulevard Saint-Michel, Paris.
POULENC, 86, rue Vieille-du-Temple, Paris.

Règle déformable-pistolet :

Presses Universitaires de France, 49, boulevard Saint-Michel, Paris.

Films scientifiques :

(Segmentation, mouvements cellulaires, cultures de tissus, etc., par le Docteur COMANDON).
Presses Universitaires de France, 49, boulevard Saint-Michel, Paris.

MICROSCOPIE - MICROGRAPHIE
BIOLOGIE

Agents généraux des microscopes et appareils pour fond noir
KORISTKA — LEITZ — SPENCER

ETS COGIT
36, boul. Saint-Michel
PARIS

TOUT POUR - LE - LABO

Biol.
F.
208888
Author Fauré-Fremiet, E.
Title La cinétique du développement.

University of Toronto
Library

DO NOT
REMOVE
THE
CARD
FROM
THIS
POCKET

Acme Library Card Pocket
Under Pat "Ref. Index File"
Made by LIBRARY BUREAU